



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

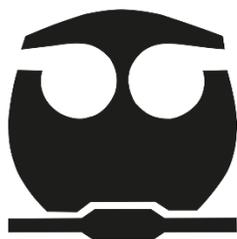
TESIS

**“SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y
SENSADO DEL COMPLEJO DE RUTENIO
DEL TIPO $[Ru_2(L^1Cl(PPh_3))_2]$ COMO
QUIMIOSENSOR PARA EL
RECONOCIMIENTO DEL ION CLORURO”**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO**

PRESENTA

HERNÁNDEZ PINEDA LEONARDO



CDMX 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: MÉNDEZ STIVALET JOSE MANUEL

VOCAL: Profesor: SOSA FERNÁNDEZ PLINIO JESÚS

SECRETARIO: Profesor: THANGARASU PANDIYAN

1° SUPLENTE: Profesor: LUNA PABELLO VÍCTOR MANUEL

2° SUPLENTE: Profesor: ARCOS RAMOS RAFAEL OMAR

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: LAB. 215 FACULTAD DE QUÍMICA, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

ASESOR DEL TEMA: Dr. THANGARASU PANDIYAN

SUPERVISOR TÉCNICO: Dr. HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ JOSÉ GUADALUPE

SUSTENTANTE: HERNÁNDEZ PINEDA LEONARDO

AGRADECIMIENTOS

INDICE

AGRADECIMIENTOS	III
SIMBOLOS Y ABREVIATURAS	VII
INDICE DE FIGURAS, TABLAS, ESQUEMAS.	IX
CAPITULO 1.	1
Introducción	1
CAPITULO 2.	3
Antecedentes	3
2.1 Reconocimiento Molecular.	3
2.2 Quimiosensores moleculares.	4
2.3 Quimiosensores Fluorescentes.	5
2.3.1 Fluorescencia.	6
2.3.2 Triboluminiscencia	8
2.3.3 Fosforescencia	9
2.3.4 Bioluminiscencia	10
2.4 Receptores con centros metálicos.	10
2.5 Receptores Aniónicos.....	11
2.6 Ligante de bis-benzimidazol.....	13
2.7 Complejos de Rutenio.	14
2.7.1 Regla de los 18 electrones.	15
2.8 Complejos dinucleares	20
2.9 La importancia del Cl ⁻ y sus interacciones en sistemas biológicos.....	20
CAPITULO 3.	22
Hipótesis	22
CAPITULO 4.	23
Objetivo general	23
CAPITULO 5	24
Desarrollo experimental	24
Anotaciones generales.....	24

REACTIVOS, DISOLVENTES Y EQUIPO	24
<i>Síntesis de L¹</i>	27
<i>Síntesis de [Ru₂(L¹Cl(PPh₃))₂]</i>	29
<i>Preparación de Stocks de sales de tetrabutilamonio</i>	30
CAPITULO 6.....	31
<i>Detalles de caracterización</i>	31
LIGANTE 31	
COMPLEJO	35
CAPITULO 7.....	39
Estudio de detección de aniones para el complejo de rutenio	39
Estudio de UV-vis de complejo.....	39
Estudio de fluoscencia.....	40
Reconocimiento de aniones para complejo [Ru ₂ (L ¹ Cl(PPh ₃)) ₂].	41
CAPITULO 8.....	45
<i>Evaluación inhibitoria de bacterias Gram (+) y Gram (-)</i>	45
CAPITULO 9.....	49
<i>Conclusiones</i>	49
BIBLIOGRAFÍA	50

SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

^1H	Protón
^{13}C	Carbono desacoplado de protón
M^+	Ion molecular
m/z	Relación masa-carga
ppm	Partes por millón
mmol	Milimoles
mM	Milimolar
C	Concentración
V	Volumen
°	Grados
°C	Grados Celsius
Hz	Hertz
MeOH	Metanol
AE	Análisis elemental
EM	Espectroscopia de masas
RMN	Resonancia magnética nuclear
λ	Longitud de onda
L^1	Ligante
CH_3CN	Acetonitrilo
Cl^-	Ion cloruro
I^-	Ion yoduro
AcO^-	Ion acetato
Br^-	Ion bromuro
F^-	Ion fluoruro
PO_4^-	Ion fosfato
NO_3^-	Ion nitrato

CN^-	Ion cianuro
ClO_4^-	Ion perclorato
PF_6^-	Ion hexafluorofosfato
HSO_4^-	Ion bisulfato
Ru(II)	Rutenio dos
S_0	Estado singulete
s	Segundo
$\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2$	Dicloruro de bis(trifenilfosina) rutenio(II)

INDICE DE FIGURAS, TABLAS, ESQUEMAS.

Figura 1 Interacción electrónica entre un Huésped (especie iónica) y un receptor (anfitrión).....	4
Figura 2 Representación de un quimiosensor capaz de detectar un analito.....	5
Figura 3 Representación de un analito y su cambio en su emisión de fluorescencia e interacción con el DNA.....	6
Figura 4 Diagrama de Jablonski.....	8
Figura 5 Diagrama de fosforescencia.....	9
Figura 6 Reacción de quimioluminiscencia.....	10
Figura 7 Complejos $[\text{Cu}(\text{mida})(\text{H}_2\text{O})_2]$ coordinados a moléculas neutras (H_2O , guanina-histidina y histidina.....	11
Figura 8 Benzimidazol y derivado de bis(benzimidazol).....	14
Figura 9 Complejo de rutenio (II).....	15
Figura 10 Enlace puente mediante un ion cloruro.....	15
Figura 11. Grupo orbital ligante y su combinación con los orbitales atómicos de igual simetría.....	17
Figura 12. Diagrama de orbital molecular, el enlace implica solo interacciones sigma metal-ligante.....	18
Figura 13 Diagrama de orbital molecular parcial aproximado para el enlace p metal-ligante en complejos octaédricos con ligante del tipo p donador.....	19
Figura 14 Diagrama de orbital molecular parcial aproximado para el enlace p metal-ligante en complejos octaédricos con ligante del tipo p aceptor.....	19

Figura 15 Complejo de rutenio dinuclear.....	20
Figura 16 Desarrollo de síntesis general	26
Figura 17 Espectro de absorción UV-vis del complejo $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]$ 1.32mM.....	39
Figura 18. Comparación de absorción y emisión del complejo $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]$	40
Figura 19. Evaluación de reconocimiento de aniones bajo lampara UV-vis.....	42
Figura 20. Reconocimiento de aniones en el sistema $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]\{\text{Cl}^-\}$	43
Figura 21 Evaluación de reconocimiento de aniones.....	44
Figura 22 Inhibición de bacterias en un intervalo de concentración de 0.1mM a 10mM de L1, $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]$ y $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]\{\text{Cl}^-\}$	48
Figura 23. Inhibición de bacterias en un intervalo de concentración de 0.0 mM a 0.3 mM de $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]$ y $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]\{\text{Cl}^-\}$	48
Figura 24 Inhibición de bacterias en un intervalo de concentración de 0.0 mM a 0.3 mM de $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]$ y $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]\{\text{Cl}^-\}$	48
TABLA 1 Descripción de un complejo octaédrico.....	16
TABLA 2 Resultados de la espectroscopia de masas por ID y FAB para el ligante L1.....	33
TABLA 3 Resultados de la espectroscopia de masas por ID y FAB para el complejo $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]$	37

TABLA 4 Resultados de inhibición.....	47
ESQUEMA 1 Diagrama del experimento.....	26
ESQUEMA 2 Síntesis de 1,5-bis(2-benzimidazol)-3-tiopentano [L1].....	27
ESQUEMA 3 Síntesis de $[\text{Ru}_2(\text{L1Cl}(\text{PPh}_3))_2]$	29

INDICE DE ESPECTROS

ESPECTRO A1	Espectro RMN ^1H L^1	31
ESPECTRO A2	Espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ L^1	32
ESPECTRO A3	Espectro de masas de L^1	33
ESPECTRO A4	IR ligante L^1	34
ESPECTRO A5	RMN ^1H $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}_2(\text{PPh}_3)_2)]$	35
ESPECTRO A6	RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}_2(\text{PPh}_3)_2)]$	36
ESPECTRO A7	Espectro de masas $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}_2(\text{PPh}_3)_2)]$	37
ESPECTRO A8	Espectro de IR $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}_2(\text{PPh}_3)_2)]$	38

CAPÍTULO 1.

Introducción

La detección de especies iónicas o neutras a través de moléculas receptoras ha sido considerada como un tema interesante en las ciencias analíticas, biológicas y ambientales ^{1,2}. La unión de un receptor con una molécula huésped generalmente provoca que toda la unidad (complejo huésped-huésped) se comporte espectral o electroquímicamente diferente de los del resto individual (receptor o huésped). Por lo tanto, varios investigadores tienen la intención de aplicar este concepto para desarrollar sistemas de reconocimiento/detección molecular para la detección de cationes o aniones, o moléculas orgánicas neutras en muestras analíticas / biológicas / ambientales ^{3,4}. Se sabe que la eficiencia del reconocimiento molecular depende de muchos factores, de los cuales el medio disolvente desempeña un papel vital para la formación de enlaces de hidrógeno entre la molécula huésped y el resto huésped ^{5,6}; por supuesto, el tipo de ligando unido al sitio de unión. Todo el problema depende principalmente de la naturaleza hidrofóbica o hidrofílica en los solventes polares. Además, el tipo de propiedades que presentan los iones analizados como el radio atómico, la dureza / suavidad, la carga de iones y el tipo de orbital involucrado en la formación del enlace también deben considerarse en el desarrollo del sistema de sensor molecular. Anteriormente, los complejos de rutenio (III) derivados de N, N'-bis (salicilideno) etilendiamina (L¹) ⁷ o de ligandos basados en benzimidazol ⁸ se han empleado para el reconocimiento de aniones (acetato y cloruro). Para desarrollar esta de investigación, se sintetizó el complejo de rutenio

$[\text{Ru(II)L}^1\text{Cl}_2(\text{PPh}_3)] + (\text{L}^1 = 1,5\text{-bis(2-Benzimidazol)-3-tiopentano})$ y se caracterizó por diferentes técnicas analíticas (FTIR, Masas, ^1H , ^{13}C RMN y AE) y posteriormente su formación como complejo de Ru(II) también caracterizado por (FTIR, Masas, ^1H , ^{13}C RMN y AE) y UV visible. Este complejo se empleó como quimio-sensor para la reorganización de iones de cloruro con un estudio de fluorescencia a partir del complejo de rutenio. La detección de aniones es tan importante que puede aplicarse en muchas muestras químicas, biológicas y ambientales, además de varios cofactores y otros sustratos bioquímicamente relevantes que son de naturaleza aniónica. En el estudio de fluorescencia, $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]$ detecta eficientemente el ion cloruro sin interferencia de otros aniones (F^- , CN^- , Br^- , I^- , NO_3^- , HSO_4^- , PF_6^- , AcO^- , ClO_4^- , PO_4^-). Se encontró que la estequiometría determinada por la gráfica de Job's Plot para la interacción del complejo Rutenio con el cloruro es 1: 1.

CAPÍTULO 2.

Antecedentes

2.1 Reconocimiento molecular.

La química supramolecular está explorando activamente sistemas sometidos a autoorganización, es decir, sistemas capaces de generar espontáneamente arquitecturas supramoleculares funcionales bien definidas mediante autoensamblaje a partir de sus componentes, sobre la base de la información molecular almacenada en el marco covalente de los componentes y leída a nivel supramolecular a través de algoritmos de interacción de *reconocimiento molecular* específicos, comportándose así como sistemas químicos programados. Las entidades supramoleculares, así como las moléculas que contienen enlaces reversibles, pueden sufrir un cambio continuo en la constitución mediante la reorganización y el intercambio de bloques de construcción⁹. Así el *reconocimiento molecular*, es la base de la química supramolecular debido a la construcción de cualquier sistema que permite la asociación molecular selectiva. Formalmente el reconocimiento molecular versa en dos especies: un huésped (ligante), siendo ésta una especie iónica o neutra que se asocia selectivamente a un receptor llamado anfitrión(metal)¹⁰.

El proceso de *reconocimiento molecular* se lleva a cabo en dos etapas: Etapas de activación, llevándose a cabo un reajuste conformacional para organizar sus sitios de unión de forma complementaria al huésped para minimizar las interacciones

desfavorables entre ellos. La segunda etapa es la etapa de unión siendo energéticamente favorable debido a la atracción entre el huésped y el anfitrión.

En principio, un anfitrión debe tener sitios de enlace que son de carácter electrónico complementario al huésped, además estos sitios deben de estar espaciados de tal manera que pueda interactuar de acuerdo con la forma y tamaño del huésped ¹⁰.

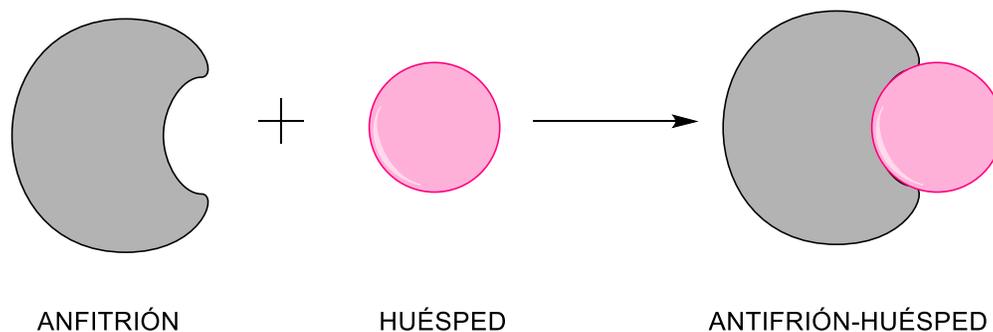


Figura 1. Interacción electrónica entre un Huésped (especie iónica) con un receptor (anfitrión).

2.2 Quimiosensores moleculares.

Un sensor es un dispositivo que interactúa con la materia o energía y como respuesta se tiene una señal medible, de este modo se han diseñado moléculas capaces de actuar como sensores sobre otras moléculas ¹¹. De este modo un quimiosensor es capaz de detectar un analito en tiempo real, produciendo un cambio detectable como la absorción o emisión de la luz, siendo esta una señal medible ¹².

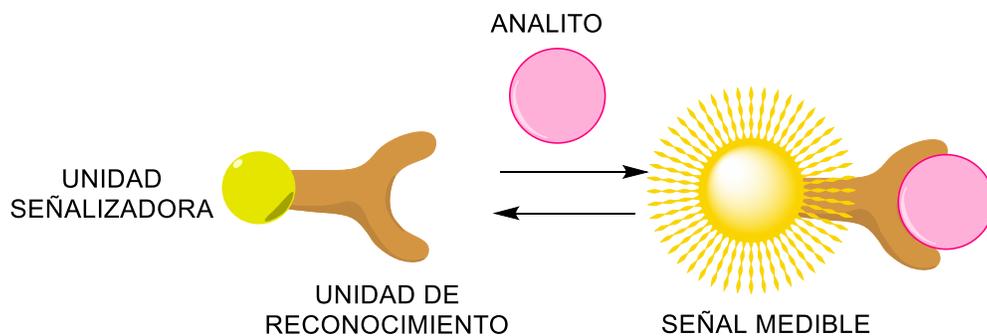


Figura 2. Representación de un quimiosensor capaz de detectar un analito

Los químicos analíticos y los científicos ambientales generalmente requieren de moléculas con capacidad de reconocer algún analito de interés, ya que estas moléculas señalizadoras son capaces de entregar una señal medible, cuantitativa y cualitativa ¹².

2.3 Quimiosensores fluorescentes.

Los quimiosensores fluorescentes son aquellos que, al interactuar con un analito, pueden identificarlo por cambios en su emisión de fluorescencia, ya sea aumentándola o disminuyéndola. Los quimiosensores tiene dos funciones. La primera es proporcionar la interacción con el analito de interés de modo selectivo y la segunda es la señalización de esta interacción de manera medible. En el caso de los quimiosensores fluorescentes la señal medible de la interacción analito-quimiosensor es la fluorescencia. Los métodos de fluorescencia son muy utilizados en el área médica, ambiental y biología por ser de bajo costo y selectiva ^{13,14,15}.

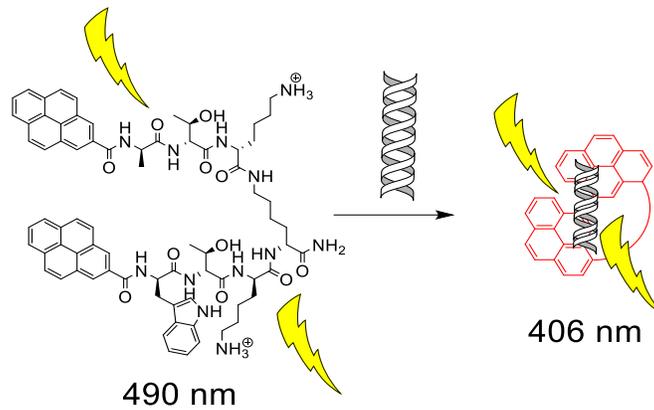


Figura 3. Representación de un analito y su cambio en su emisión de fluorescencia e interacción con el DNA.

2.3.1 Fluorescencia.

Una molécula absorbe energía electromagnética, en general esta energía se pierde en forma de calor; pero hay ciertas moléculas que cuando absorben radiación de alta energía, como radiación UV, sólo se pierde parte de la energía en las colisiones y entonces el electrón regresa al estado fundamental, emitiendo un fotón de menor energía (mayor longitud de onda) que la que absorbió. Las moléculas están normalmente en estado fundamental (singulete S_0), en donde todos los electrones están apareados, con spines opuestos y ocupando el mismo orbital molecular; la fluorescencia comienza con la absorción de un fotón (10^{-15} s) por el fluoróforo, causando una transición electrónica a un estado de mayor energía (excitado).

Si los electrones tienen el mismo espín, están “desapareados” y la molécula se encuentra en estado triplete. Los estados singulete y triplete indican la multiplicidad de la molécula. En la mayor parte de las moléculas orgánicas esa absorción corresponde a una transición del nivel vibracional más bajo en el estado

fundamental a uno de los niveles vibracionales del primero o segundo estado electrónico excitado de la misma multiplicidad (S_1 , S_2). Si la transición se da a un estado electrónico más elevado que S_1 , rápidamente se efectúa un proceso de conversión interna.

La molécula excitada pasa del nivel vibracional de este estado electrónico superior a un nivel vibracional elevado de S_1 , de igual energía con el estado excitado original. El relajamiento vibracional sucede cuando los choques con las moléculas eliminan con rapidez el exceso de energía del nivel vibracional elevado de S_1 .

Los procesos de conversión interna y relajamiento vibracional suceden rápidamente en un tiempo de 10^{-12} s. Debido a esta rápida pérdida de energía, es rara la fluorescencia de emisión de estados superiores al primer estado excitado. Una vez que la molécula llega al primer singulete excitado, la conversión interna del estado fundamental es un proceso relativamente lento. Así, la degradación del primer estado excitado por emisión de un fotón puede competir de manera selectiva con otros procesos de decaimiento. Este proceso de emisión es la fluorescencia. En general, la emisión de la fluorescencia sucede 10^{-6} - 10^{-9} segundos después de la excitación ^{16,12,17,18,19,20}.

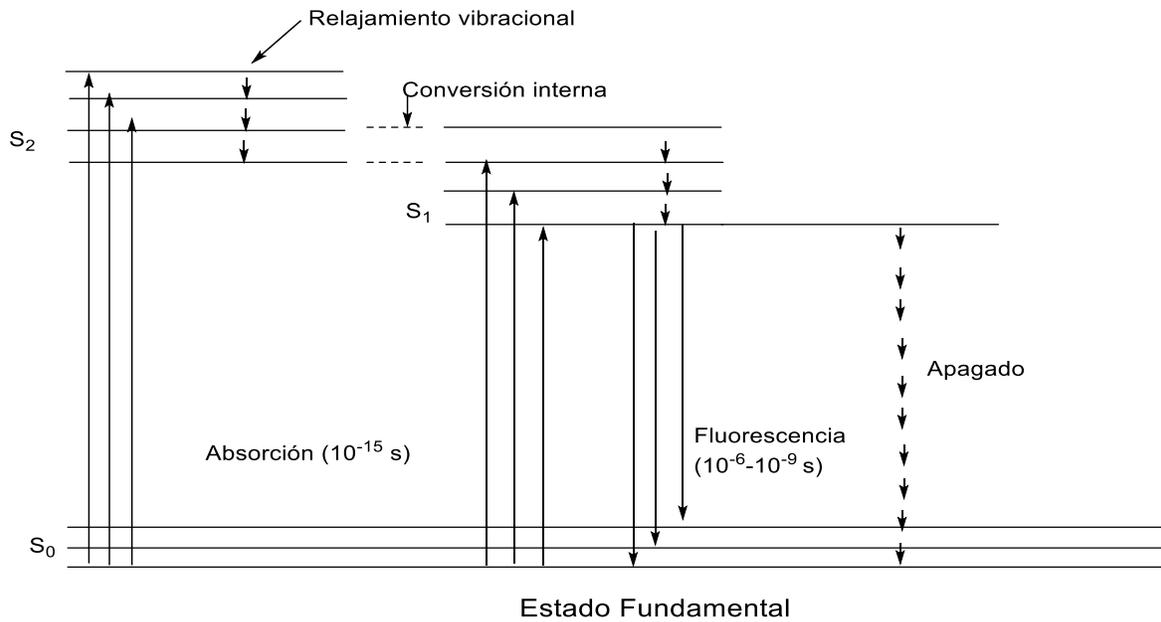


Figura. 4. Diagrama de Jablonski

2.3.2 Triboluminiscencia

En un sistema cristalino con alto orden estructural, un choque mecánico o tensión causa una emisión de luz, proceso llamado triboluminiscencia. El efecto fue observado por primera vez por Sir Francis Bacon a principios del siglo XVII a partir de la abrasión del azúcar dura con un cuchillo. Las razones por las que algunos sistemas son más propensos a la triboluminiscencia que otros siguen siendo misteriosos y la causa última del efecto aún se debate ²¹.

2.3.3 Fosforescencia

A nivel molecular, en la fosforescencia lo que sucede es el mismo tipo de estado electrónico excitado que se genera en la fluorescencia, sin embargo, en la fosforescencia, la especie experimenta una transformación adicional antes de que regrese al estado fundamental.

Un estado fundamental para un átomo o molécula puede tener uno o dos electrones en cada nivel, pero si dos electrones están en el mismo nivel de energía, deben tener espines magnéticos opuestos; Decimos que sus giros están emparejados. En la fosforescencia, (**Figura 5**) el electrón excitado cambia su giro magnético mediante un proceso conocido como cruce entre sistemas. El nuevo estado para el sistema en el que el electrón de estado fundamental restante y el electrón de estado excitado ahora tienen el mismo giro magnético se llama estado triplete. Una vez que esto sucede, la molécula todavía está excitada, y es muy difícil volver al estado fundamental porque hacerlo requeriría un giro de giro adicional y un cambio en el nivel de energía electrónica ^{21,22}.

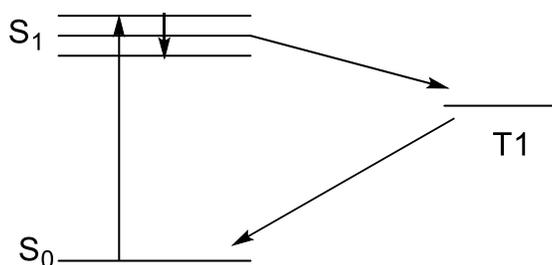


Figura 5. Diagrama de fosforescencia

2.3.4 Bioluminiscencia

Es un proceso bioquímico por el cual los organismos vivos producen luz resultado de una reacción bioquímica donde interviene la luciferasa. La reacción sucede de la siguiente manera: el oxígeno oxida el sustrato es decir, luciferina; la luciferasa acelera la reacción, y el ATP proporciona la energía para la reacción produciéndose agua y luz, la cual es muy notoria durante la noche. Se trata de una conversión directa de la energía química en energía lumínica.

Este fenómeno se puede observar en bacterias, hongos, protistas, unicelulares, celentéreos, gusanos, moluscos, cefalópodos, peces, equidermos, insectos y medusas^{21,22}.

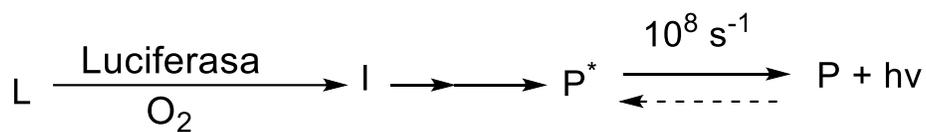


Figura 6. Reacción de quimioluminiscencia.

2.4 Receptores con centros metálicos.

Los complejos metálicos con sitios de coordinación disponibles han sido comúnmente utilizados en reconocimiento molecular. Su desarrollo se basa en la síntesis de quimiosensores ²⁰, en el estudio de metaloenzimas ²⁰ o en ensamblajes supramoleculares ²³. Los complejos metálicos con sitios disponibles son ácidos de Lewis que pueden coordinar una gran variedad de grupos funcionales básicos; así

el reconocimiento molecular en sistemas biológicos que involucra centros metálicos, comúnmente se lleva a cabo por enlaces de coordinación reversibles y en cooperatividad con interacciones no covalentes. Para que un complejo pueda ser usado, éste debe ser estable en el medio y poder formar un enlace de coordinación fuerte con el huésped. Es necesario que el complejo sea estable tanto termodinámicamente como cinéticamente para evitar que la molécula huésped no desplace a los ligantes originales del complejo ²⁴. Un ejemplo de ellos es el complejo $[\text{Cu}(\text{mida})(\text{H}_2\text{O})_2]$ ²⁵ capaz de coordinar diferentes péptidos a su esfera de coordinación (**Figura 7**).

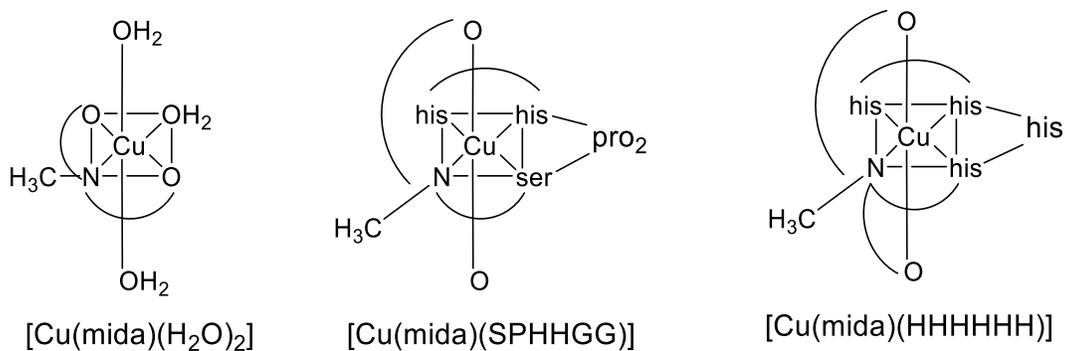


Figura 7. Complejos $[\text{Cu}(\text{mida})(\text{H}_2\text{O})_2]$ coordinados a moléculas neutras (H_2O , (guanina-histidina y histidina)

2.5 Receptores aniónicos.

Durante años pasados, se han realizado varios avances significativos en el campo de la detección de aniones. Los principios fundamentales del reconocimiento molecular se comprenden cada vez mejor y los avances de varios receptores de

aniones sintéticos que son capaces de realizar su tarea en medios naturales complejos.

En la actualidad se están fabricando dispositivos macroscópicos como electrodos específicos de aniones y membranas que tienen un enfoque de reconocimiento molecular. Mientras que la unión de cationes requiere centros básicos de Lewis, la forma natural de reconocer los aniones es sintetizando los complejos correspondientes que soporten los sitios ácidos de Lewis ²⁶. Los complejos inorgánicos capaces de detectar aniones forman parte de los receptores de aniones más usados hoy en día, de complejidad y arquitectura cada vez mayor.

Generalmente, el papel del centro metálico es doble. En primer lugar, para proporcionar el dispositivo de señalización, y también para promover la unión de aniones en virtud de su carga positiva (acidez Lewis) que le permite realizar la superposición orbital estabilizadora con el huésped aniónico. Sin embargo, puede llegar a existir la interferencia entre la química de coordinación de metales y el proceso de reconocimiento de aniones. Por lo tanto, es de primordial importancia utilizar sistemas basados en metales que sean estables termodinámica y cinéticamente en una amplia gama de condiciones ^{26,27,28}.

Se han utilizado complejos de rutenio (III) derivados de N, N'-bis (salicilideno) etilendiamina o de ligandos basados en benzimidazol para el reconocimiento de aniones (acetato y cloruro). La detección de aniones es tan importante como puede aplicarse en muchas muestras químicas, biológicas y ambientales ^{29,30} además de varios cofactores y otros sustratos bioquímicamente relevantes que son de naturaleza aniónica. En particular, los iones acetato participan considerablemente

en diversas funciones metabólicas a través de la formación de enlaces de hidrógeno (actividad enzimática y funciones de anticuerpos).³¹

Por lo tanto, la sonda de luminiscencia para el reconocimiento de aniones se vuelve más popular en las técnicas analíticas. Esto se debe a que los complejos de rutenio exhiben interesantes propiedades foto-físicas / electroquímicas, desempeñando un papel crucial en la selección de aniones (AcO^- , CN^- , F^- y H_2PO_4^-) mediante el proceso de reconocimiento^{32,33,34}. En la literatura, los diferentes aniones se han detectado selectivamente utilizando los siguientes complejos: $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}](\text{ClO}_4)_2$ ($\text{L} = 2$ - (2-metoxifenil) -1H-imidazo, fenantrolina)³⁵, $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{H}_3\text{L})] + (\text{H}_3\text{L} = 5$ - (1H-benzo [d] imidazol-2-il) -1H-imidazol-4-carboxílico)³⁶ y $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{L})](\text{PF}_6)_2$ ($\text{L} = \text{calixareno}$)³⁷ para acetato, o / y iones F^- ; complejo de rutenio (II) -polipiridilo basado en ferroceno-imidazofenano-treolina³⁸ para cloruro, $[\text{Ru}(\text{bpy})_3](\text{ClO}_4)_2$ ($\text{bpy} = 2,2'$ -bipiridina) y $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{mpipH})](\text{ClO}_4)_2$ ($\text{bpy} = 2,2'$ -bipiridina; $\text{mpipH} = 2$ - (4-metilfenil) imidazo [4,5-f] -1,10-fenantrolina)³⁹ para CN^- .

2.6 Ligante de bis-benzimidazol.

Los derivados de benzimidazol y bis-benzimidazol son componentes clave en una gran cantidad de compuestos bioactivos de origen natural y sintético. Estos ligandos y sus derivados muestran una amplia gama de actividad farmacológica y sus propiedades inhibitorias en lo que respecta a la replicación de los virus de la polio, adenosina desaminasa y la caseína quinasa que se han demostrado completamente^{40,41}. Otros ejemplos incluyen el 5-aminoimidazol ribonucleótido, un intermediario clave en la vía biosintética de purina de novo⁴², y 5- (formilamino) imidazol ribonucleósido, un inhibidor competitivo de la adenosina desaminasa.

Además de su importancia biológica, estos ligandos son agentes fuertemente coordinantes y forman complejos estables con varios metales ^{43,44,45}.



Figura 8. Benzimidazol y derivado de bis(benzimidazol).

2.7 Complejos de Rutenio.

Los iones metálicos desempeñan un papel vital en una gran cantidad de diferentes productos biológicos diferentes, procesos llevados a través del sistema coenzimático. La interacción de estos iones con ligantes biológicamente activos, por ejemplo, en drogas, es un tema de gran interés. Algunos de los compuestos biológicamente activos actúan a través de la quelación, pero para la mayoría de ellos se sabe poco sobre cómo la coordinación de metales influye en su actividad. Se cree que reaccionan selectivamente frente a ciertos sistemas biológicos ⁷. En este contexto, los complejos de rutenio (**Figura 9**) son particularmente relevantes debido a sus excelentes propiedades redox y fotofísicas ⁴⁶, Además, los complejos de rutenio, en los que los centros metálicos se integran a un ligante orgánico derivado de benzimidazol permite dejar un sitio de coordinación para el reconocimiento de aniones. Tales complejos metálicos pueden ofrecer una oportunidad interesante para ajustar la actividad del sensor para el reconocimiento selectivo de aniones ⁸.

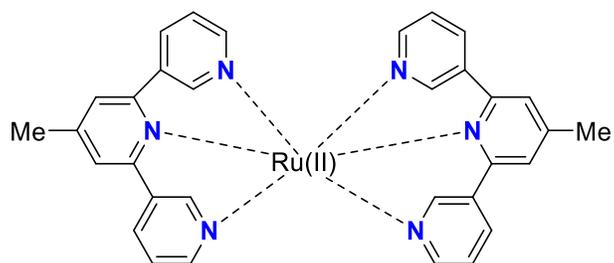


Figura 9. Complejo de Rutenio (II)

2.7.1 Regla de los 18 electrones.

De acuerdo con la regla de los 18 electrones, el centro metálico debe ser rico en electrones, es decir el metal debe tener un estado de oxidación bajo y los ligantes deben ser buenos aceptores π . Las especies diméricas también son estables y diamagnéticas, sin embargo, para algunos ligantes el conteo de electrones se modifica a medida que se altera el tipo de enlace ⁴⁷.

Por ejemplo, el halógeno enlazado con un solo átomo metálico tiene un par electrónico de no enlace adicional libre y puede contribuir a un segundo centro metálico, cuando esto ocurre, la contribución electrónica aumenta al doble.

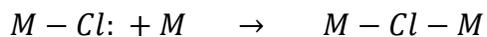


Figura 10. Enlace puente mediante un ion cloruro

En un complejo octaédrico, el ordenamiento nos establecerá aquel en el cual todos los orbitales de enlace (a_{1g} , t_{1u} , e_g y t_{2g}) están totalmente ocupados y todos los orbitales de antienlace están vacíos.

Como hay nueve orbitales moleculares de enlace, se requieren 18 electrones por lo tanto los complejos cumplirán con esta regla cuando tengan calores mayores de Δ_0 , lo cual ocasiona que la ocupación de los orbitales e_g^* de antienlace sea desfavorable.

Numero de coordinación	Disposición de átomos dadores.	Orbitales que se hibridan	Descripción.
6	Octaédrica.	$s, p_x, p_y, p_z, d_{z^2}, d_{x^2-y^2}$	sp^3d^2

Tabla 1. Descripción de un complejo octaédrico

Se puede construir un diagrama de Orbital Molecular para describir un enlace en un complejo octaédrico.

El orbital “s” tiene simetría a_{1g} los orbitales “p” están degenerados y tienen simetría t_{1u} y los orbitales “d” se desdoblan en dos grupos e_g (d_{z^2} , $d_{x^2-y^2}$) y t_{2g} (d_{xy} , d_{yz} , d_{xz}) cada ligante proporciona un orbital de simetría.

La combinación de los orbitales del metal y los ligantes generan seis orbitales moleculares enlazantes y seis antienlazantes ^{48,49}.

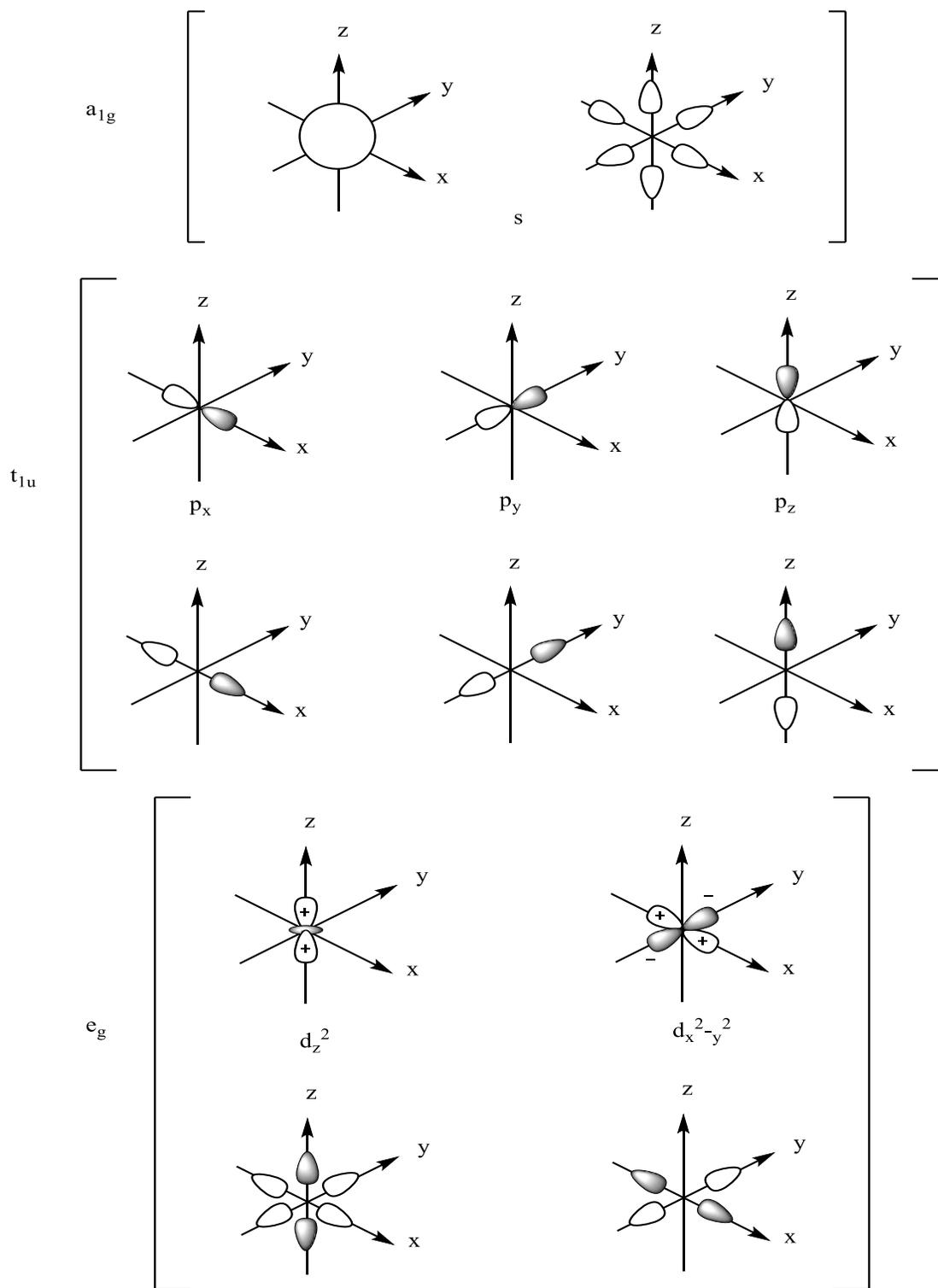


Figura 11. Grupo orbital ligante y su combinación con los orbitales atómicos de igual simetría.

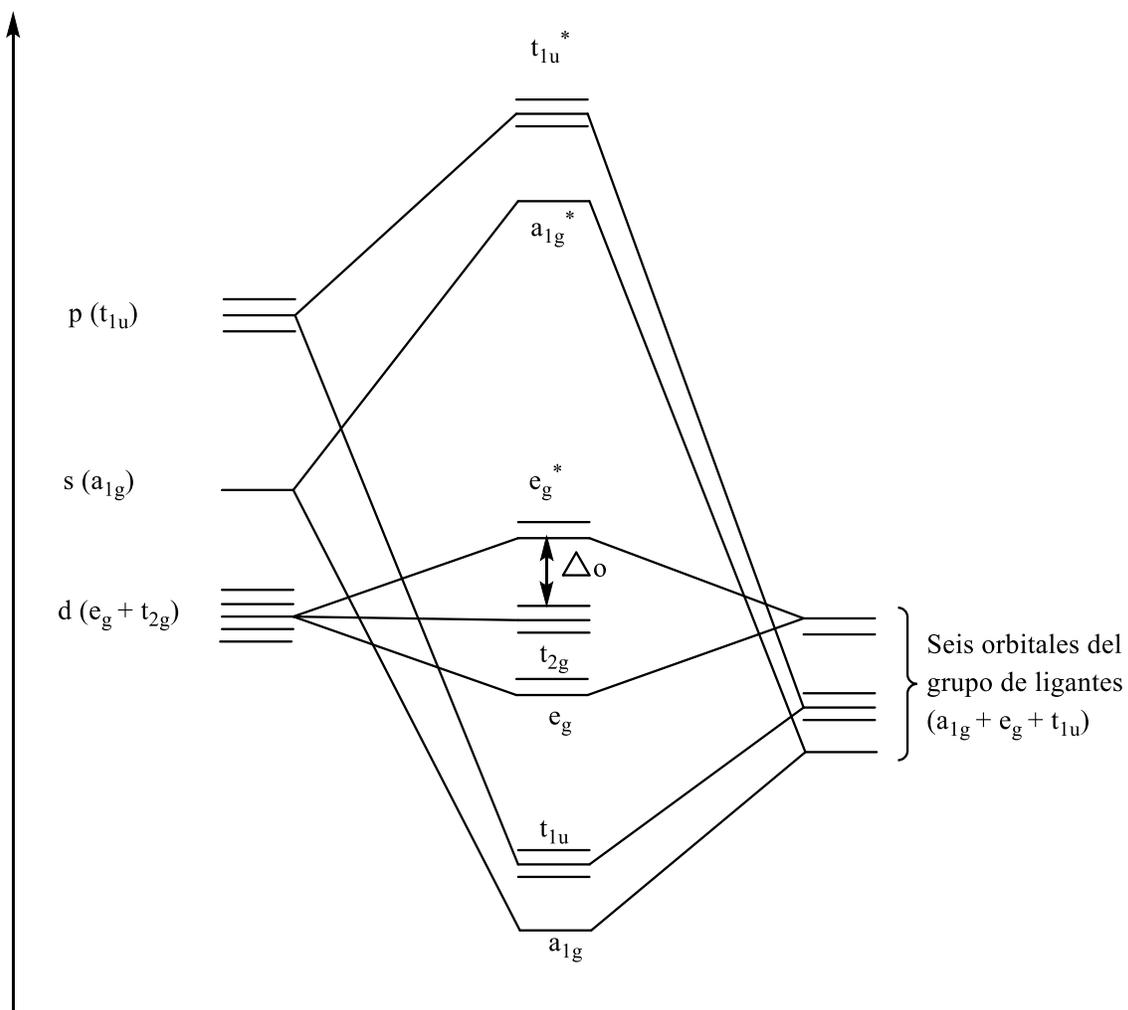


Figura 12. Diagrama orbital molecular, el enlace implica solo interacciones sigma metal-ligante.

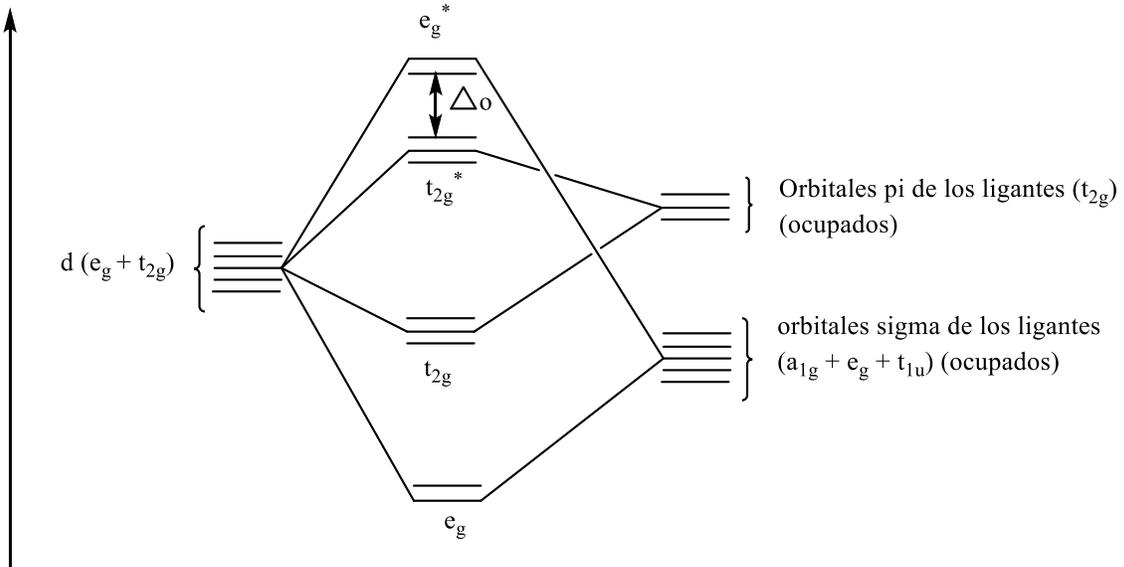


Figura 13. Diagrama de orbital molecular parcial aproximado para el enlace pi metal-ligante en complejos octaédricos con ligante del tipo pi donador.

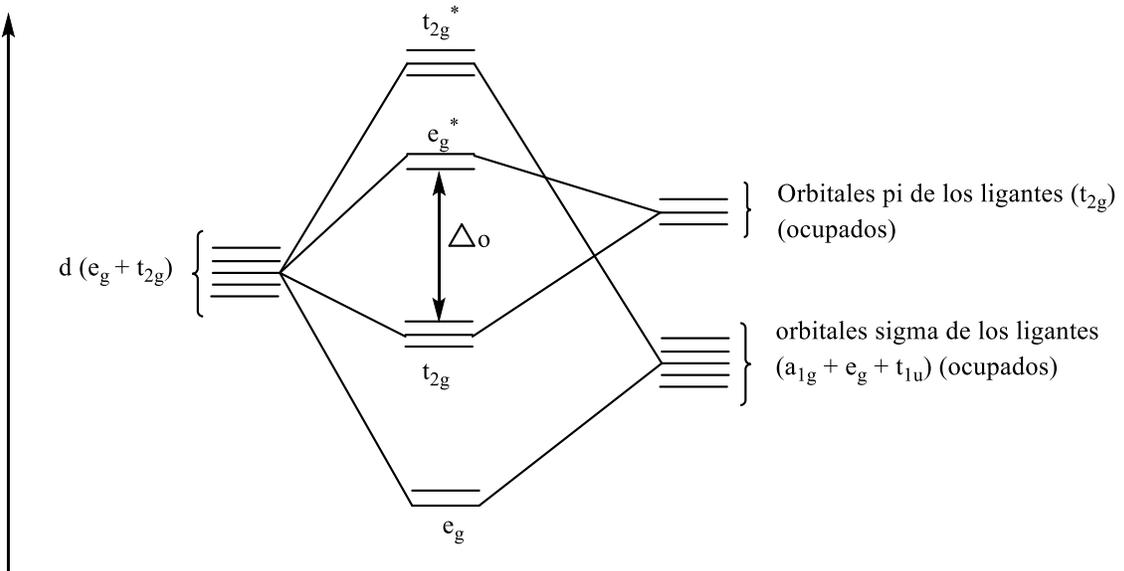


Figura 14. Diagrama de orbital molecular parcial aproximado para el enlace pi metal-ligante en complejos octaédricos con ligante del tipo pi aceptor.

2.8 Complejos dinucleares

Los complejos dinucleares de rutenio tienen la capacidad de formar enlaces puente a través de átomos de cloro, formando enlaces Metal-Metal y Metal-Cl-Metal ⁵⁰ dentro del mismo complejo (**Figura 15**). Los complejos dinuclear (Ru_2L) que contienen ligantes halógeno puente son una clase bien establecida de compuestos. No solo exhiben reactividades únicas hacia muchos sustratos tales como alquinos, H_2 y CO , sino que también son catalizadores activos en diversas reacciones formadoras de enlaces C-C y C-heteroátomo. Estos complejos dinucleares tienden a ser más reactivos que un complejo mononuclear ^{51,52}, así mismo entre sus diferentes aplicaciones este tipo de complejos Ru_2L pueden aumentar la actividad catalítica en diferentes sistemas^{53,54}.

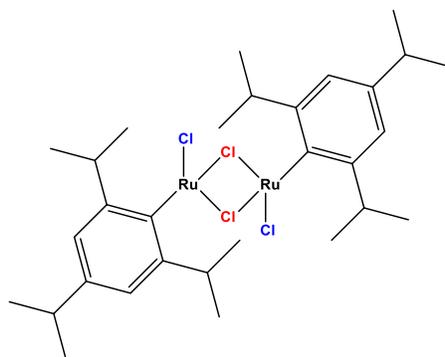


Figura 15. Complejo de rutenio dinuclear

2.9 La importancia del Cl^- y sus interacciones en sistemas biológicos.

Los aniones cloruro regulan muchos procesos fisiológicos, como el potencial de membrana, el volumen celular de neurotransmisión, etc ^{55,56}. Un cambio en la concentración de anión cloruro en una célula puede provocar diversos trastornos ⁵⁷. Además, la alteración de la homeostasis del cloruro puede causar fibrosis quística.

un trastorno que afecta los pulmones, el hígado, el páncreas y el intestino. El transporte anormal de cloruro y sodio a través de un epitelio es la posible causa de esta enfermedad. Además, los iones cloruro también desempeñan un papel fundamental en la industria del hormigón. Un aumento del contenido de cloruro en los hormigones induce la despasivación de las barras de acero y el inicio de la corrosión, lo que conduce a la degradación de la construcción. Por lo tanto, los aniones de cloruro están involucrados en diversos campos como la biología humana, las ciencias ambientales y la industria de la construcción. Esto nos animó a desarrollar un quimiosensor con alta selectividad para el cloruro sobre otros haluros y aniones adicionales.

Generalmente, el orden de unión aniónica preferida a un complejo metálico o receptor basado en enlaces de hidrógeno es $F^- > Cl^- > Br^- > I^-$, de acuerdo con una relación de carga a tamaño decreciente ⁵⁸. Según esta tendencia, el fluoruro tiene una mayor afinidad. Sin embargo, hay varios informes sobre receptores, que mostraron selectividad para un haluro distinto del fluoruro, con frecuencia debido al tamaño complementario del anión y la pseudocavidad ⁵⁹, o un proceso de conmutación conformacional ^{59,60,61}. Un fenómeno similar puede atribuirse a un complejo con cloruro: la pseudocavidad del sensor tiene una geometría complementaria para el anión cloruro y puede sufrir cambios conformacionales.

CAPÍTULO 3.

Hipótesis

Será posible la formación del complejo de rutenio de la forma $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]$ a partir de la mezcla del sulfuro de bis-benzimidazol y la sal de cloruro de bis(trifenilfosfina)rutenio(II), y con él, llevar a cabo el reconocimiento del ion cloruro entre la serie (F^- , Cl^- , Br^- , I^- , AcO^- , NO_3^- , HSO_4^- , PO_4^- , CN^- , PF_6^- , ClO_4^-) que aumente o disminuya la fluorescencia. Si esto se cumple, el complejo $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]$, se someterá al estudio de la actividad inhibitoria en bacterias Gram (+) y Gram (-) con el fin de inhibir alguna de ellas en bajas concentraciones.

Objetivo general

Síntesis del complejo de rutenio (II) bimetálico con grupos sulfuro y benzimidazol como quimiosensor para el reconocimiento del ion cloruro y su aplicación en la inhibición de bacterias.

Objetivos específicos:

- a) Sintetizar el ligante L¹ (sulfuro de bis(benzimidazol) mediante la reacción del ácido 2,2'-tiodietanoico y 1,2-diaminobenceno.
- b) Llevar a cabo la formación del complejo de rutenio (II) y caracterízalo por diferentes técnicas espectroscópicas (FTIR, ¹H, ¹³C RMN, GC-MS, UV-vis y AE)
- c) Estudiar el reconocimiento del ion cloruro por diferentes técnicas reconocimiento de aniones, titulación, interferencia con una serie de aniones para observar la tendencia de la fluorescencia del complejo.
- d) Analizar la estequiometría del complejo de rutenio con el ion cloruro por el método de Job's Plot.
- e) Evaluar la actividad inhibitoria del complejo de Rutenio frente a diferentes bacterias Gram (+) y Gram (-).

Desarrollo experimental

Anotaciones generales

Todos los productos químicos (grado analítico) se usaron tal como se recibieron de Sigma-Aldrich sin ninguna purificación adicional. El porcentaje de contenido elemental (C, H, N) se determinó en un analizador elemental (instrumento Fisons, modelo EA 1108 CHNSO). Con un equipo de RMN (Varian Gemini, 300 MHz), se registraron espectros de RMN ^1H y ^{13}C para los compuestos y se usó TMS como patrones internos. Los fragmentos espectrales de masas de los compuestos se determinaron mediante un GC - MS (instrumento Joel JMS - Axsosha). Se registraron los espectros de absorción de UV - Vis en un espectrofotómetro (Perkin Elmer, Lambda 25) y los espectros de fluorescencia en un espectrofotómetro F96 Pro.

REACTIVOS, DISOLVENTES Y EQUIPO

Los disolventes requeridos para la síntesis de los compuestos sintetizados, tales como diclorometano, metanol, acetonitrilo, hexano, éter, fueron de la marca J.T. Baker de grado R.A. y no fue necesaria ninguna purificación.

Todos los reactivos fueron obtenidos comercialmente y se usaron sin purificación como se recibieron; Aldrich: ácido 2,2'-tiodietanoico (99%), 1,2-diaminobenceno (99.5%), trifenilfosfina (99%), cloruro de rutenio(III) hidratado ($\text{RuCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$), hexafluorofosfato de tetrabutilamonio $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NPF}_6$ (95%); Analytika: Metanol, éter etílico anhidro, alcohol etílico absoluto, J.T. Baker: Ácido clorhídrico, etanol;

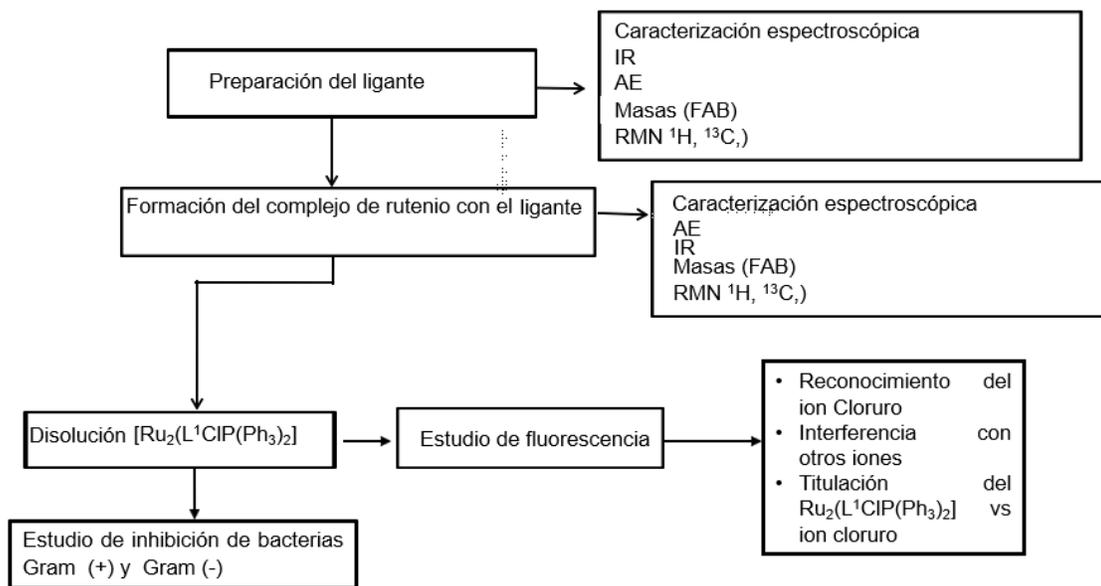
Merck: carbón activado; Mallinckrodt: Acetonitrilo; Agua destilada; gases Praxair: Nitrógeno comprimido alta pureza. Otros reactivos y solventes comercialmente disponibles se usaron como fueron recibidos.

Los puntos de fusión se determinaron en un equipo MELT - TEMP de tubos capilares, los resultados se reportan sin corrección.

Analizador elemental, marca Thermo Scientific, modelo Flash 2000. Temperatura del horno: 950°C. Microbalanza, marca Mettler Toledo, modelo XP6. Para la adquisición de cada uno de los espectros de masas en su modalidad FAB⁺ presentados en este trabajo, se utilizó un equipo Joel JMS-SX102A. El equipo de RMN, BRUKER - AVANCE de 300MHz, fue utilizado para la obtención de los espectros de RMN de ¹H, ¹³C{H}. Para el análisis de los espectros de RMN se utilizó el programa MestReNova. Las estructuras del trabajo presente se realizaron en el programa ChemDraw Professional. El equipo de laboratorio marca Pyrex.

El trabajo se llevó a cabo de acuerdo con la metodología que se muestra en el diagrama siguiente:

GENERALIDADES



Esquema 1. Diagrama del experimento: [AE= Análisis elemental, IR= Espectroscopia infrarroja, Masas (FAB)= Espectrometría de masas por impacto directo, Masas (FAB)= Espectrometría de masas bombardeo atómico rápido, RMN= Resonancia magnética nuclear del ^1H , ^{13}C , fluorescencia y estudio de inhibición de bacterias].

Durante el desarrollo de este proyecto se sintetizaron los siguientes compuestos:

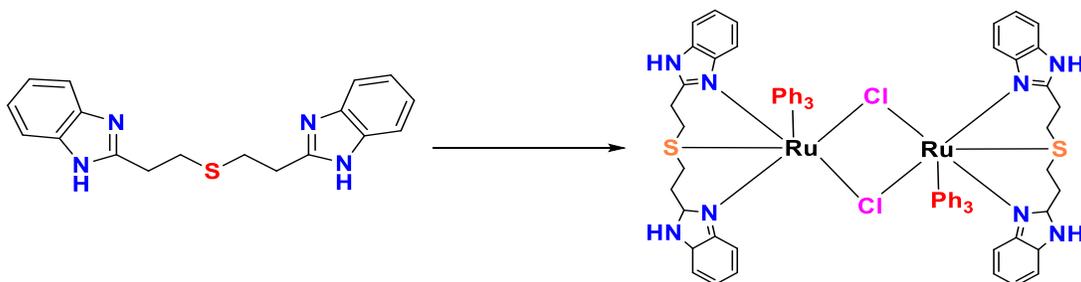


Figura 16. Desarrollo de síntesis general.

La inhibición bacteriana se llevó a cabo en metanol, una vez reconocido el ion cloruro por el complejo $[Ru_2(L^1Cl(PPh_3))_2]$, se realizaron las pruebas de inhibición de bacterias Gram (+) y Gram (-).

Síntesis de L¹

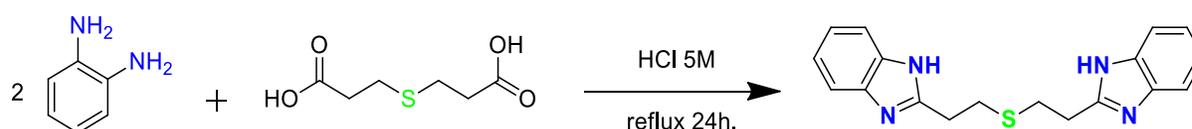
A una mezcla del ácido 3,3' tiodipropionico (8.3 g, 0.046 mol) y o-fenilendiamina (10 g, 0.093 mol) se le adiciona 250 ml de HCl 4M. La disolución se deja en reflujo por 24 horas seguida de una filtración inmediata.

Se dejó enfriar y se forman unos cristales azules, se filtran y lavan con agua, se les agrega 150 ml de agua destilada tibia y se le añadió NH₄OH, se formó una suspensión blanca con un sólido aceitoso. Ambas fases se disolvieron en metanol para posteriormente agregar carbón activado y se dejó a reflujo por 10 min. Se filtra y se agrega agua obteniendo un sólido blanco, generando la sal de bis(benzimidazol) correspondiente.

La sal de sulfuro de bis(azolio) es un sólido blanco con un rendimiento de 30.78%.

Se obtuvo 4.56 g, p.f. 196-197.

El ligante de este compuesto fue sintetizado siguiendo el siguiente procedimiento⁴¹ de acuerdo con el **Esquema 2**.



Esquema 2. Síntesis de 1,5 - bis(2 - benzimidazol) - 3 - tiopentano [L¹]

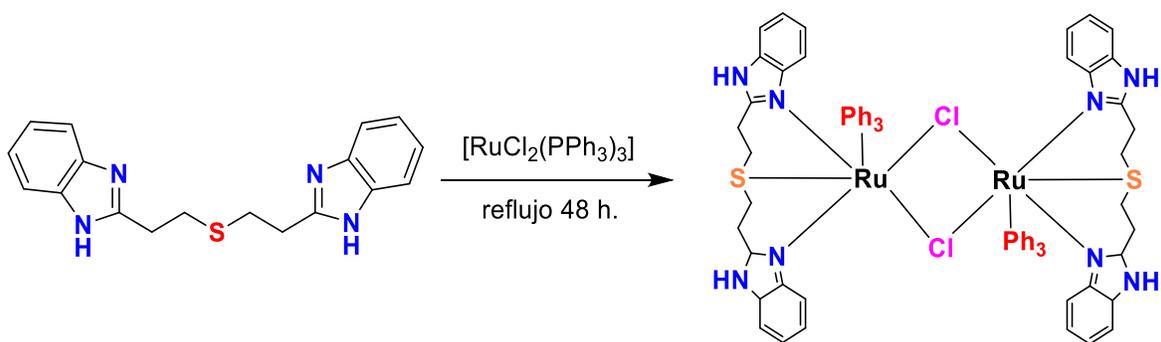
A una mezcla del ácido 3,3' tiodipropionico(8.3, 0.046mol) y o-fenilendiamina (10g,0.093mol) se le adiciona 250ml de HCl 4M. La disolución se deja en reflujo por 24 horas seguida de una filtración inmediata.

Se dejó enfriar y se forman unos cristales azules, se filtran y lavan con agua, se les agrega 150 ml de agua destilada tibia y se le añadió NH₄OH, se formó una suspensión blanca con un sólido aceitoso. Ambas fases se disolvieron en metanol para posteriormente agregar carbón activado y se dejó a reflujo por 10 min. Se filtra y se agrega agua obteniendo un sólido blanco

Las **composiciones porcentuales** teóricas para este compuesto (**L¹**) son de 67.05%C, 17.37 %N, 5.62 %H, 9.94 %S respectivamente. Estos concuerdan con los valores experimentales obtenidos fueron 65.53 %C, 17.45 %N, 5.51%H, 9.51%S. **IR:** (KBr) ν_{max}/cm^{-1} : 2937.22(CH₂), 3054.15 (C-H), 1624.05 (C=N), 1533.77 (C=C), 1591.41 (C=C), 1434.74,1271.42,740.64 (C=C). **¹H-NMR(400MHz):** δ 2.99 (4H,t,CH₂), 3.09 (4H,t, CH₂), 7.12 (in,4H), 7.48 (in,4H), (2H, NIH no resuelto). El espectro fue obtenido empleando DMSO-*d*₆ como disolvente; en él se observan las señales esperadas para la estructura propuesta. Las señales características son: **¹³C-NMR(400MHz):** δ 153.86 (2C), 121.95 (2C), 118.42 (4C), 111.81 (4C), 40.24 (2C,S-CH₂) 29.55 (2C,C-CH₂). El espectro fue obtenido empleando DMSO-*d*₆ como disolvente; en él se observan las señales esperadas para la estructura propuesta. **MS:** 145 m/z (100%) seguida de 132 (53.84%), 179 (9.61), 323 (7.69).

Síntesis de $[Ru_2(L^1Cl(PPh_3))_2]$.

La esquema de la formación de $[Ru_2(L^1Cl(PPh_3))_2]$ por la reacción con $[RuCl_2(PPh_3)_3]$ (ver **Esquema 3**).



Esquema 3. Síntesis de $[Ru_2(L^1Cl(PPh_3))_2]$

Después de obtenido el ligante de coordinación, se hace reacción con $[RuCl_2(PPh_3)_3]$ para formar el compuesto de coordinación $[Ru_2(L^1Cl_2(PPh_3))_2]$. haciendo reaccionar 0.050 g de la sal de sulfuro de bis(benzimidazol) con 0.1485g de $[RuCl_2(PPh_3)_3]$ en acetonitrilo por 48 horas. Posterior a ellos, se rotavapora el disolvente al mínimo y se precipita con éter/hexano 70:30. Se deja sonicando por media hora y finalmente se filtra el sólido amarillo/verdoso pálido y se deja secar a T. ambiente. Se obtuvo un rendimiento de 83.33 % y p.f 265-266 °C.

Las **composiciones porcentuales** teóricas para este compuesto es de 57.14%C, 7.40 %N, 4.39 %H, 4.23 %S respectivamente. Estos concuerdan con los valores experimentales obtenidos fueron 52.31 %C, 7.92 %N, 4.73%H, 3.27 %S. **IR:** (KBr) ν_{max}/cm^{-1} : 3381.17, 3053.80 (C-H), 2059.90, 2919.03 (CH₂), 1621.87, 1587.50, 1456 (-C=C-) 743.73, 693.80 (=C-H), 3381.17 (O-H), 1658.34 (C=N) **¹H-NMR(400MHz):** δ 2.69 (4H,t,CH₂), δ 2.85 (4H,t, CH₂), δ 7.19-7.21, δ 7.27-7.36, δ 13.21-13-50. El

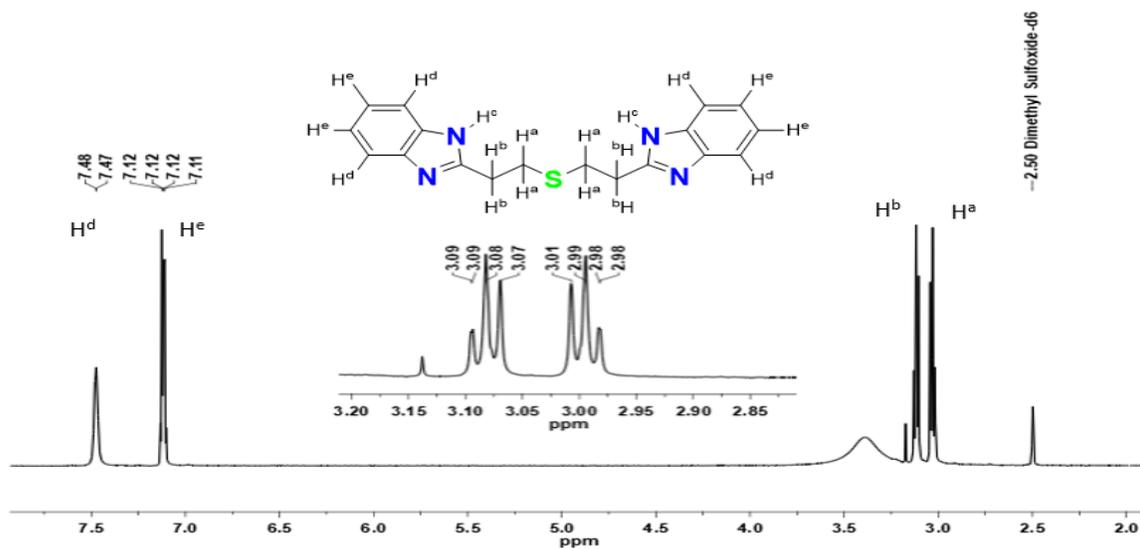
espectro fue obtenido empleando DMSO- d_6 como disolvente; en él se observan las señales esperadas para la estructura propuesta. Las señales características son: $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR(400MHz): δ 25.79 (2C), δ 39.93 (2C), δ 112.08 (4C), δ 121.13 (4C), δ 129.30-133.83 (18C). El espectro fue obtenido empleando DMSO- d_6 como disolvente; en él se observan las señales esperadas para la estructura propuesta. **MS:** 1442 m/z (17 %) seguida de 721(36 %) 423 (39 %), 277 (48 %).

Preparación de Stocks de sales de tetrabutilamonio.

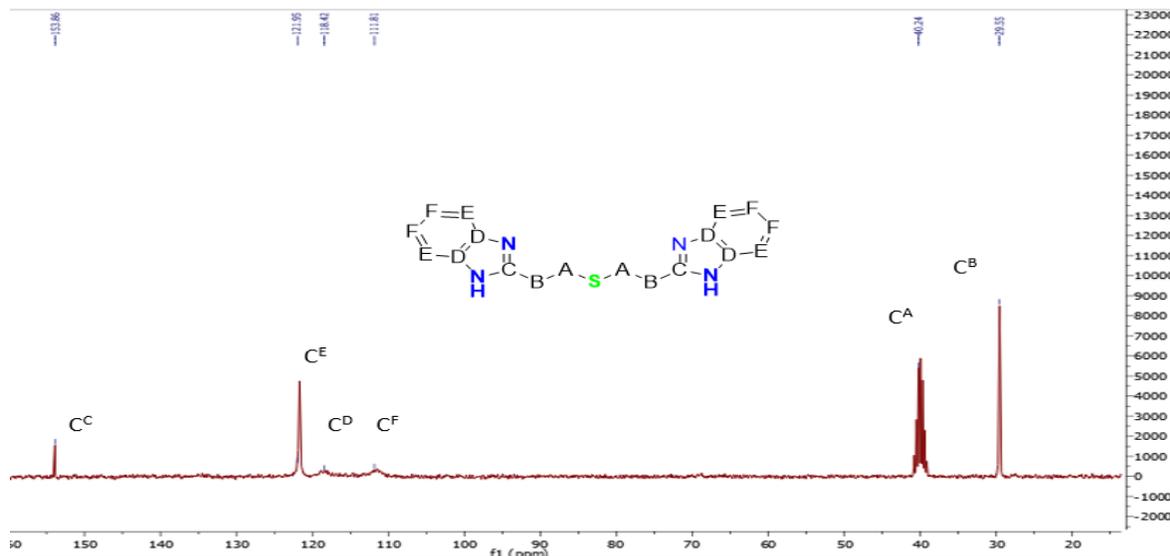
Todos los stocks se prepararon 0.1 M y fueron aforadas a 10 ml en metanol grado analítico marca J.T. Baker. Se adicionó 10 microlitros del complejo más 10 microlitros de anión y se llevó a un volumen de 2500 microlitros en celda.

9.2.4 Ensayo de inhibición bacteriana Gram (+) y Gram (-).

Se adiciona en cada pozo 100 microlitros de caldo para bacterias, 20 microlitros de la disolución del complejo a distintas concentraciones (0mM-10mM) y 100 microlitros de las bacterias previamente cultivadas. Se pone en una incubadora a 37°C por 24 horas y se agrega el indicador de 2,3,5-trifenil-2H-tetrazolio que demostró donde hay crecimiento formando una pigmentación roja en el medio.

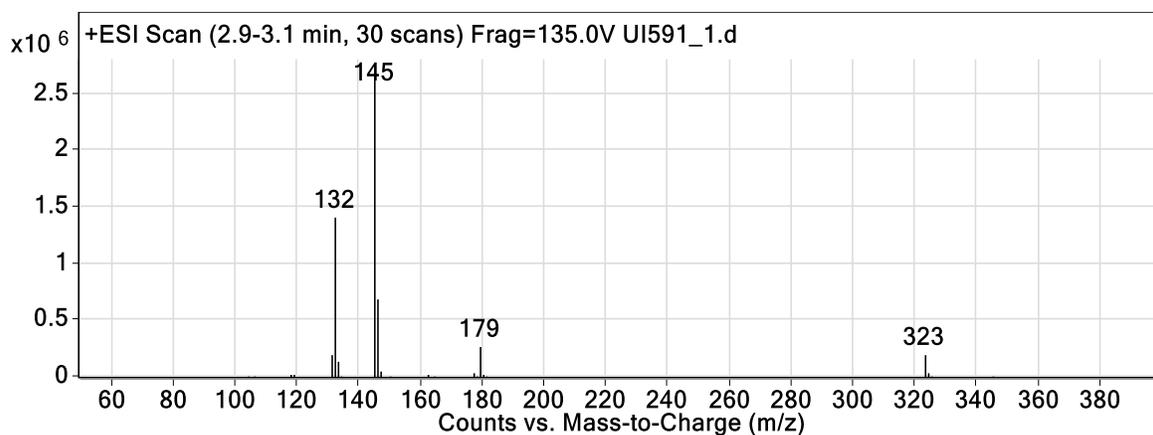
Detalles de caracterización**LIGANTE****Espectro A1 . Espectro RMN ¹H L¹**

El espectro de resonancia para el estudio de protón muestra las siguientes señales ¹H-NMR(400MHz): δ 2.99 (4H,t,CH₂), 3.09 (4H,t, CH₂), 7.12 (in,4H), 7.48 (in,4H), (2H, NIH no resuelto). El espectro fue obtenido empleando DMSO-*d*₆ como disolvente; en él se observan las señales esperadas para la estructura propuesta.



Espectro A2 . Espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ L¹

Las señales características son: $^{13}\text{C-NMR(400MHz)}$: δ 153.86 (2C), 121.95 (2C), 118.42 (4C), 111.81 (4C), 40.24 (2C,S-CH₂) 29.55 (2C,C-CH₂). El espectro fue obtenido empleando DMSO-*d*₆ como disolvente; en él se observan las señales esperadas para la estructura propuesta.



Espectro A3. Espectro de masas de L1

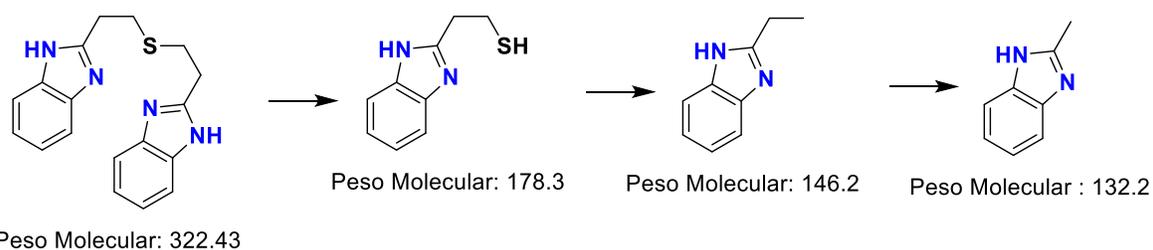
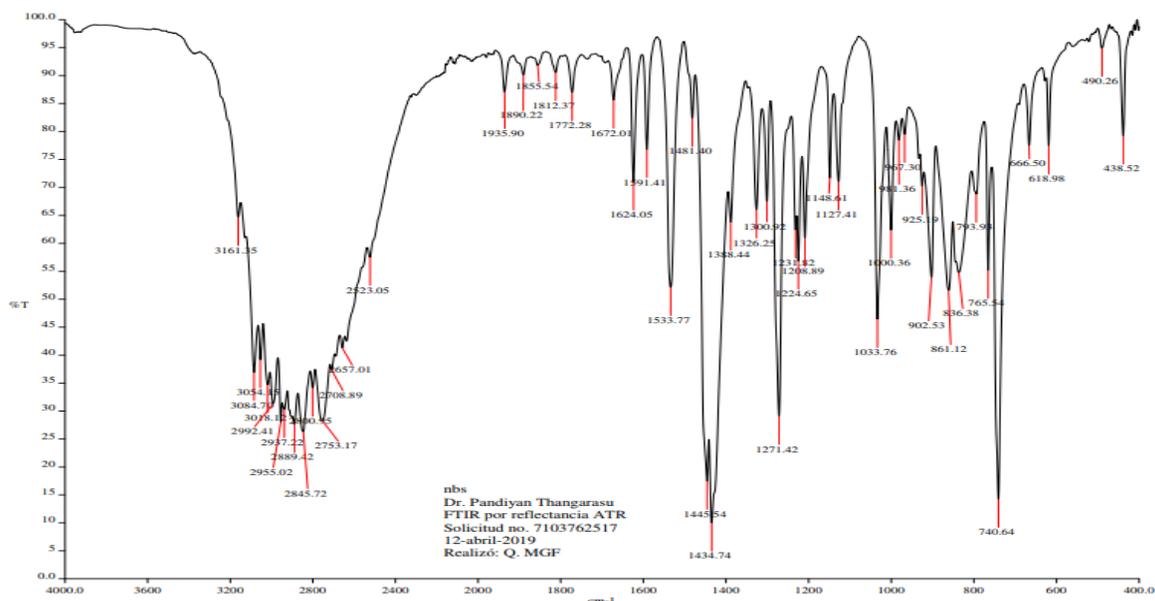


Tabla 2. Resultados de la espectroscopia de masas por ID y FAB para el ligante L1.

Compuestos	Ion molecular	Fragmentaciones del ion molecular		
L ¹	M ⁺ , m/z=323 [C ₁₈ H ₁₈ N ₄ S]	m/e= 178 [C ₉ H ₁₀ N ₂ S] ⁺	m/e= 145 [C ₉ H ₁₀ N ₂] ⁺	m/e=132 [C ₈ H ₈ N ₂] ⁺

Se encuentra el espectro de masas en la técnica FAB+ ubicando el pico base en 145 m/z (100%) seguida de 132 (53.84%), 179 (9.61), 323 (7.69).

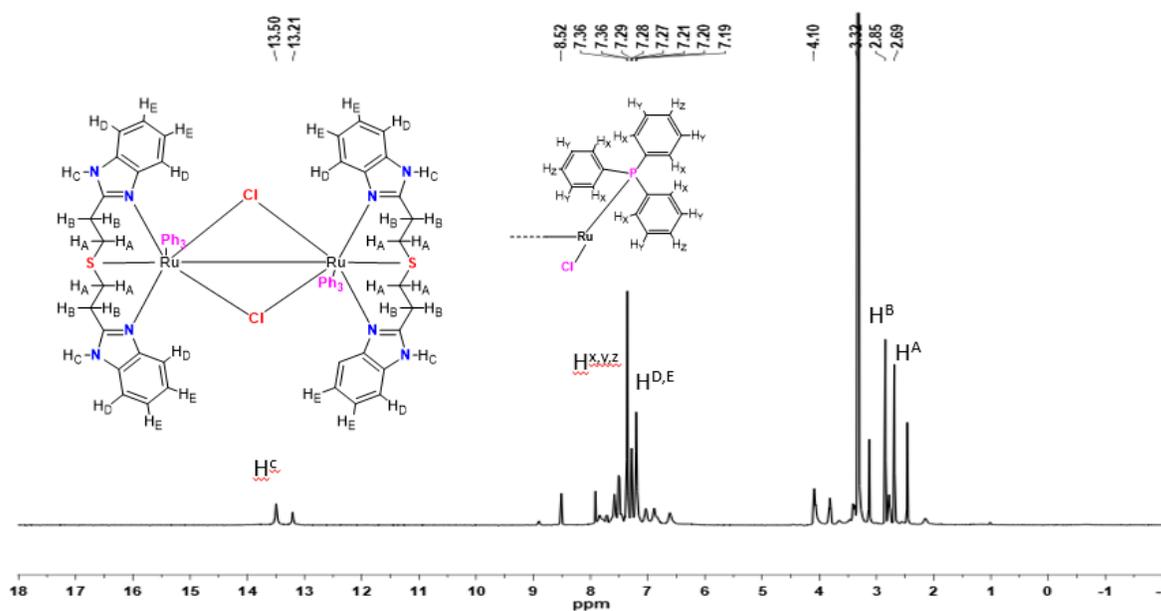
La señal m/z =322 corresponde a [M⁺, C₁₈H₁₈N₄S] (compuesto molecular) y la señal (m/z) =145 [C₉H₁₀N₂] corresponde al fragmento más estable (pico base) del espectro de masas experimental obtenido.



Espectro A4 IR. IR ligante L1

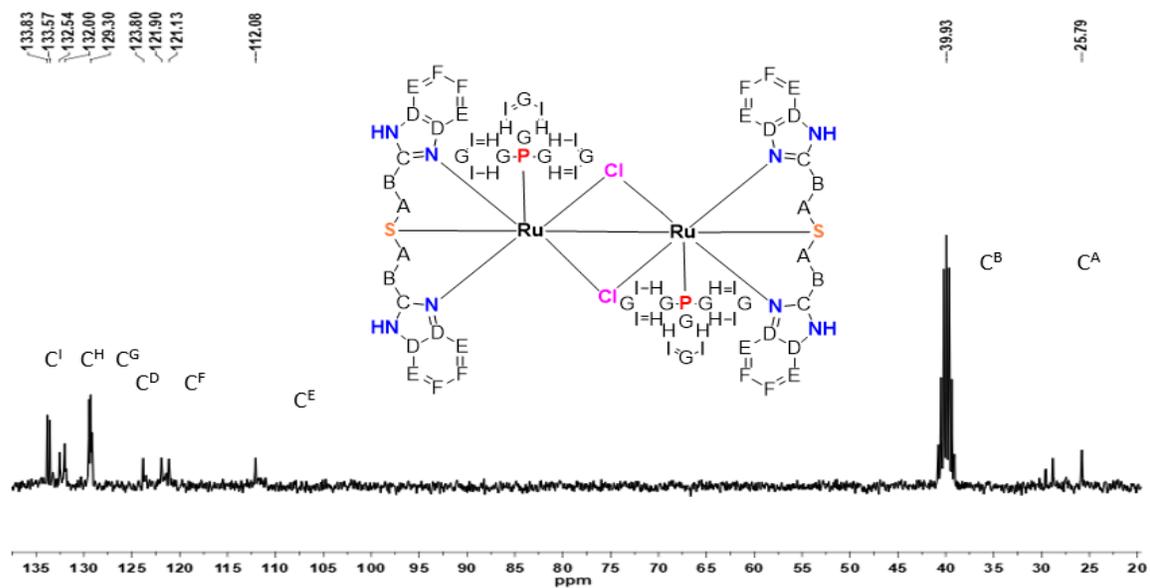
IR: (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 2937.22(CH₂), 3054.15 (C-H), 1624.05 (C=N), 1533.77 (C=C),
 1591.41 (C=C), 1434.74 (N-H), 1271.42, 740.64 (C=C), 3381.17 (O-H)
 1271.42, 740.64 (C=C).

COMPLEJO



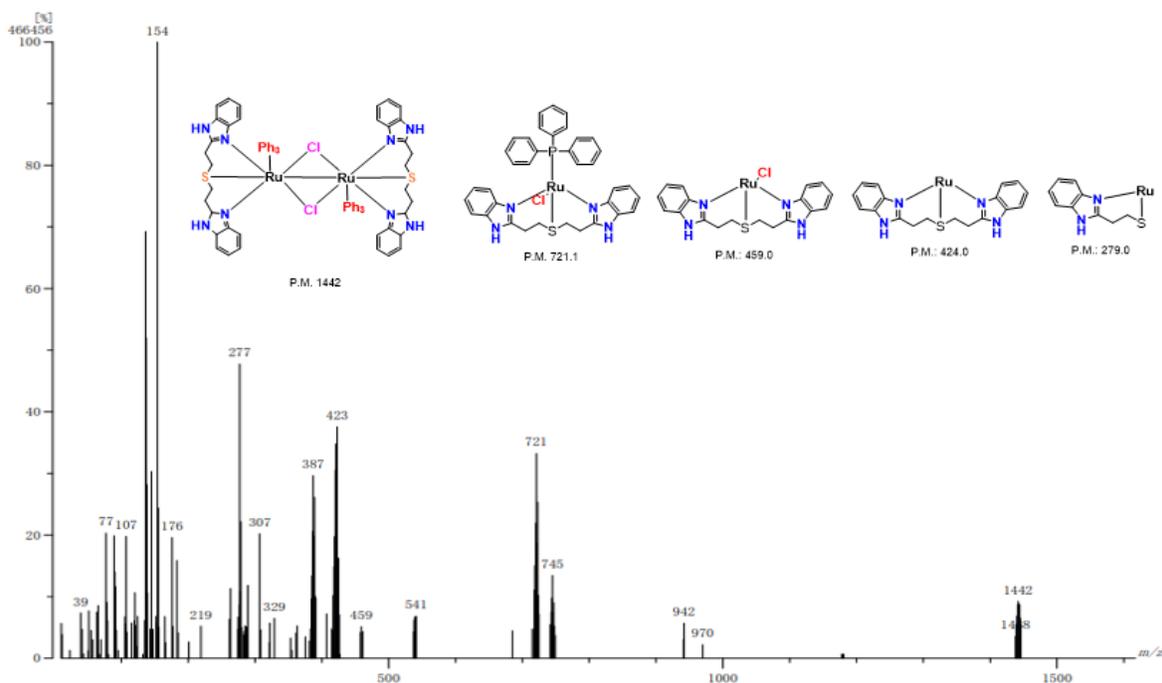
Anexo A5. RMN ^1H [$\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2$]

$^1\text{H-NMR}(400\text{MHz})$: δ 2.69 (4H,t, CH_2), δ 2.85 (4H,t, CH_2), δ 7.19-7.21, δ 7.27-7.36, δ 13.21-13.50. El espectro fue obtenido empleando $\text{DMSO-}d_6$ como disolvente; en él se observan las señales esperadas para la estructura propuesta



Espectro A6. RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}_2(\text{PPh}_3))_2]$

Las señales características son: $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR(400MHz): δ 25.79 (2C), δ 39.93 (2C), δ 112.08 (4C), δ 121.13 (4C), δ 129.30-133.83 (18C).



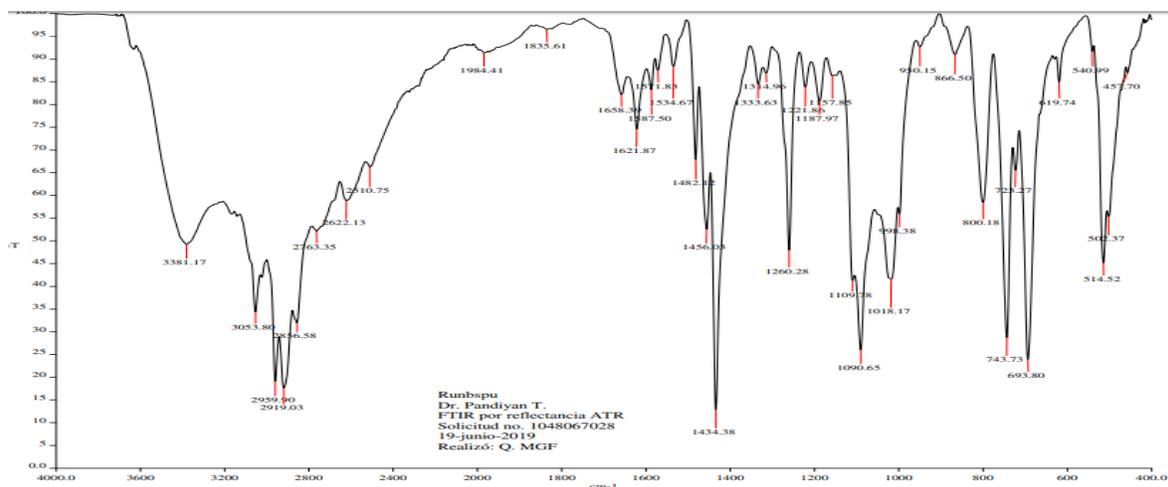
Espectro A8 masas $[Ru_2(L^1Cl(PPh_3))_2]$

Las fragmentaciones más importantes para el complejo $[Ru_2(L^1Cl(PPh_3))_2]$ se presentan en la Tabla 2 y sus espectrogramas y esquemas se indican.

Tabla 3. Resultados de la espectroscopia de masas por MALDI para el complejo $[Ru_2(L^1Cl(PPh_3))_2]$.

Compuesto	Ion molecular	Fragmentaciones del ion molecular		
$[Ru_2(L^1Cl(PPh_3))_2]$	M^+ , $m/z=1442$ $[Ru_2((L^1)Cl(PPh_3))_2]^+$	$m/e=721$ $[Ru(L^1)Cl(PPh_3)]^+$	$m/e= 423$ $[C_{24}H_{21}N_7Ru]^+$	$m/e = 277$ $[C_{24}H_{21}N_7Cl Ru]^+$

En el anexo A7 se encuentra el espectro de masas en la técnica FAB+ ubicando el pico base en 1442 m/z (17 %) seguida de 721(36 %) 423 (39 %), 277 (48 %).



Espectro A8. IR [Ru₂(L¹Cl(PPh₃))₂]

IR: (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3381.17, 3053.80 (C-H), 2059.90, 2919.03 (CH₂), 1621.87, 1587.50, 1456 (-C=C-) 743.73, 693.80 (=C-H), 3381.17 (O-H), 1658.34 (C=N)

CAPÍTULO 7.

Estudio de detección de aniones para el complejo de rutenio

Estudio de UV - vis de complejo

Posterior a la síntesis de $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]$ se llevó a cabo el estudio de reconocimiento de aniones de la serie (F^- , Cl^- , Br^- , I^- , AcO^- , NO_3^- , HSO_4^- , PO_4^- , CN^- , PF_6^- , ClO_4^-), obteniendo primero un espectro de UV - vis (**Figura. 17**) para saber la longitud de onda del complejo (λ_{exc}), observándose dos la banda de absorción en 425nm. La primera banda correspondiente a la absorción del disolvente (metanol) y la tercera a la del complejo $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]$. La muestra se preparó a una concentración de 1.32 mM.

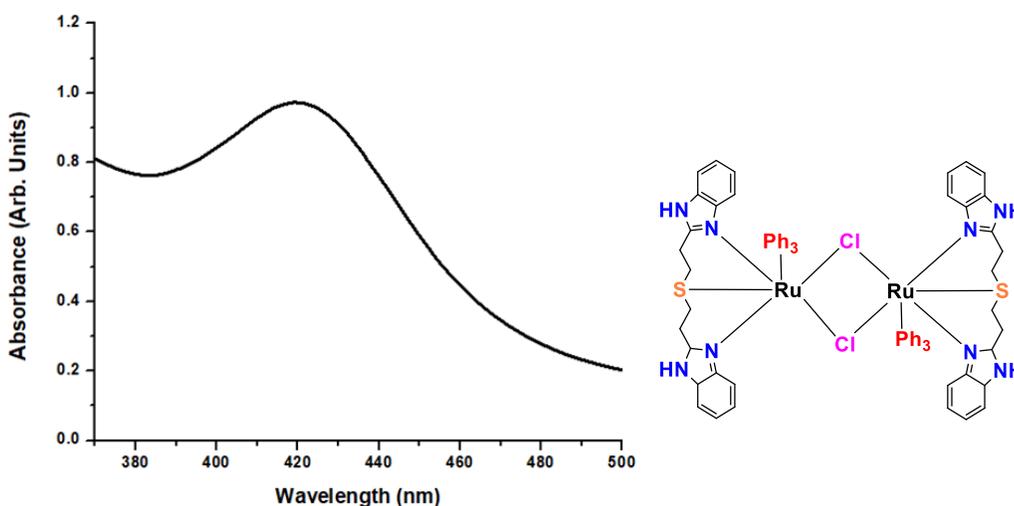
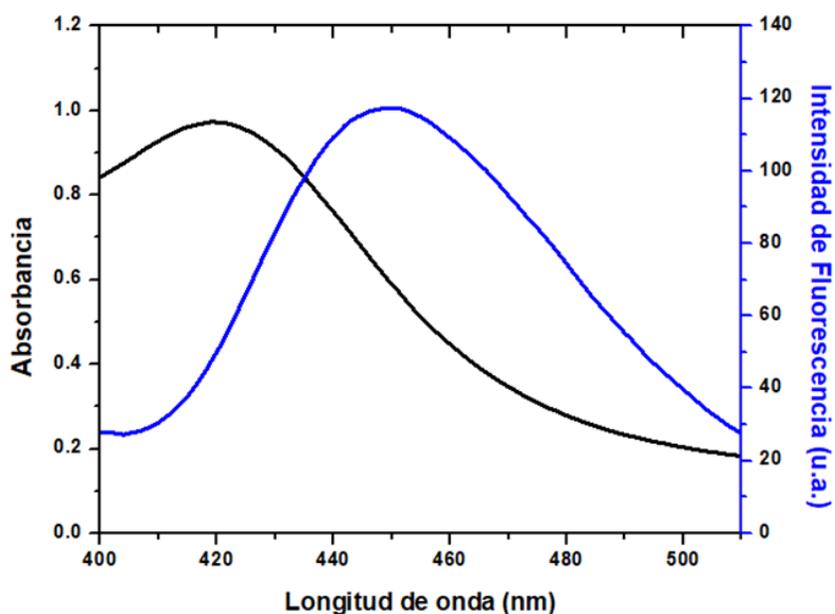


Figura 17. Espectro de absorción UV-vis del complejo $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]$ 1.32mM.

Estudio de fluorescencia

Se realizó el estudio de reconocimiento o selectividad de disoluciones 0.1 M de diferentes sales de tetrabutilamonio para ver cuál anión encendía o apagaba la fluorescencia del complejo, dando como resultado una afinidad por el ion Cl^- aumentando éste su fluorescencia del complejo $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]$ (**Figura 18**). Así como una fotografía (**Figura 19**) en disolución de las sales bajo una luz ultravioleta.

Se llevó a cabo el reconocimiento de la banda donde se debe de excitar al complejo en el equipo de fluorescencia, habiendo un desplazamiento en la λ de emisión.



λ absorción	λ emisión
425 nm	453 nm

Figura 18. Comparación de absorción y emisión del complejo $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]$.

Reconocimiento de aniones para el complejo $[Ru_2(L^1Cl(PPh_3))_2]$.

El reconocimiento de aniones se llevó a cabo adicionando 10 microlitros 0.1 M en metanol, dando como resultado un encendido con el ion cloruro respecto a los demás aniones (**Figura 19,20**). Posteriormente se realizó un segundo estudio de competencia entre complejo y el anión reconocido a otro anión para descartar que sea un anión intermediario en la coordinación de otro anión al complejo inciso C y una titulación con Cl^- viendo la linealidad entre el anión reconocido (Cl^-) y el complejo $[Ru_2(L^1Cl(PPh_3))_2]$.

El complejo de rutenio se probó como quimiosensor para el reconocimiento del anión empleando los siguientes estudios (**Figura 21**): (a) pruebas de unión, (b) estudios de unión competitiva (interferencia) y (c) análisis de valoración. Todos los experimentos se llevaron a cabo por triplicado a temperatura ambiente. En un análisis de unión de aniones, típicamente, a una solución estándar de $[Ru_2(L^1Cl(PPh_3))_2]$ en metanol, una cantidad fija de aniones diferentes en el primero se agregó la forma de sal de tetrabutilamonio (TBA) (0.1 M), y se agitó para la homogeneidad antes de registrar los espectros de fluorescencia, y se observó si $[Ru_2(L^1Cl(PPh_3))_2]$ cambia significativamente sus características del comportamiento de fluorescencia. Los resultados muestran que el complejo detecta selectivamente el ion cloruro después de usar los siguientes aniones: F^- , CH_3COO^- , CN^- , Cl^- , Br^- , I^- , NO_3^- , HSO_4^- , PF_6^- . En el análisis de unión competitiva, utilizamos otro ion coexistente en un medio competitivo para la detección de cloruro y observamos si hay alguna interferencia de otro anión coexistente que altere la intensidad de fluorescencia generada por $[Ru_2(L^1Cl(PPh_3))_2]$ + con ion cloruro. Esto

significa que la sensibilidad de $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2] + (0.1 \text{ mmol})$ como receptor para la unión del ión cloruro (0.1 M) en un medio competitivo que tiene anión adicional. En el análisis de titulación, generalmente, a $[\text{RuL1Cl}_2 (\text{PPh}_3)] + (2.0 \text{ ml}, 0.1 \text{ mmol})$, se agregó ion cloruro de tetrabutilamonio ($0 -120 \mu\text{L}$,) y para cada adición posterior, se midió la intensidad de fluorescencia medida trazado contra la concentración del ion cloruro. La estequiometría (relación de unión) para la interacción del complejo con cloruro se determinó por el método de Job. Se preparó un conjunto de soluciones que tenían una concentración total constante del receptor $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2] +$ y el anión. Se tiene datos de correlación entre el ion Cl^- adicionado con el complejo y se observa que tiene una linealidad $R= 0.9427$, así como una gráfica de Job's Plot para saber la estequiometría de intercambio entre la trifenilfosfina y el ión cloruro reconocido. Esta gráfica mostrada en la inciso d determina que se un reconocimiento 1:1.

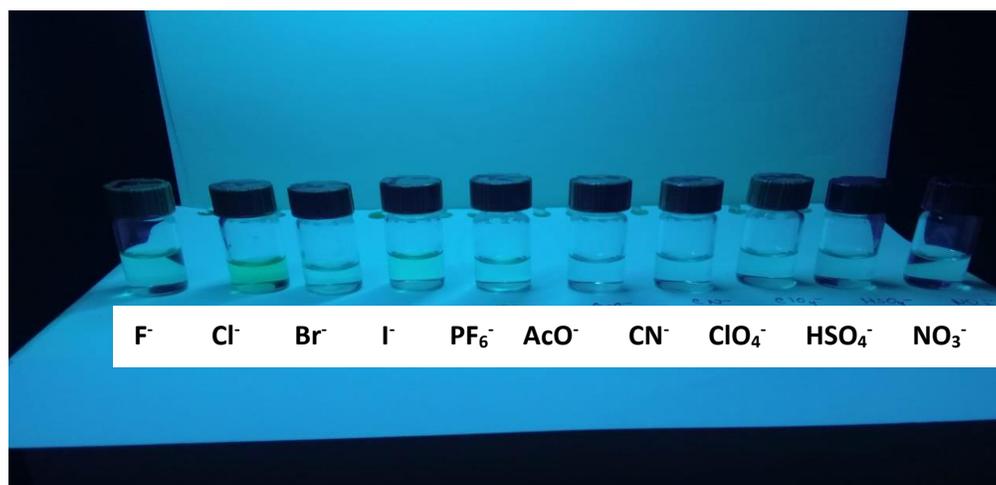


Figura 19. Evaluación de reconocimiento de aniones bajo lampara UV-vis

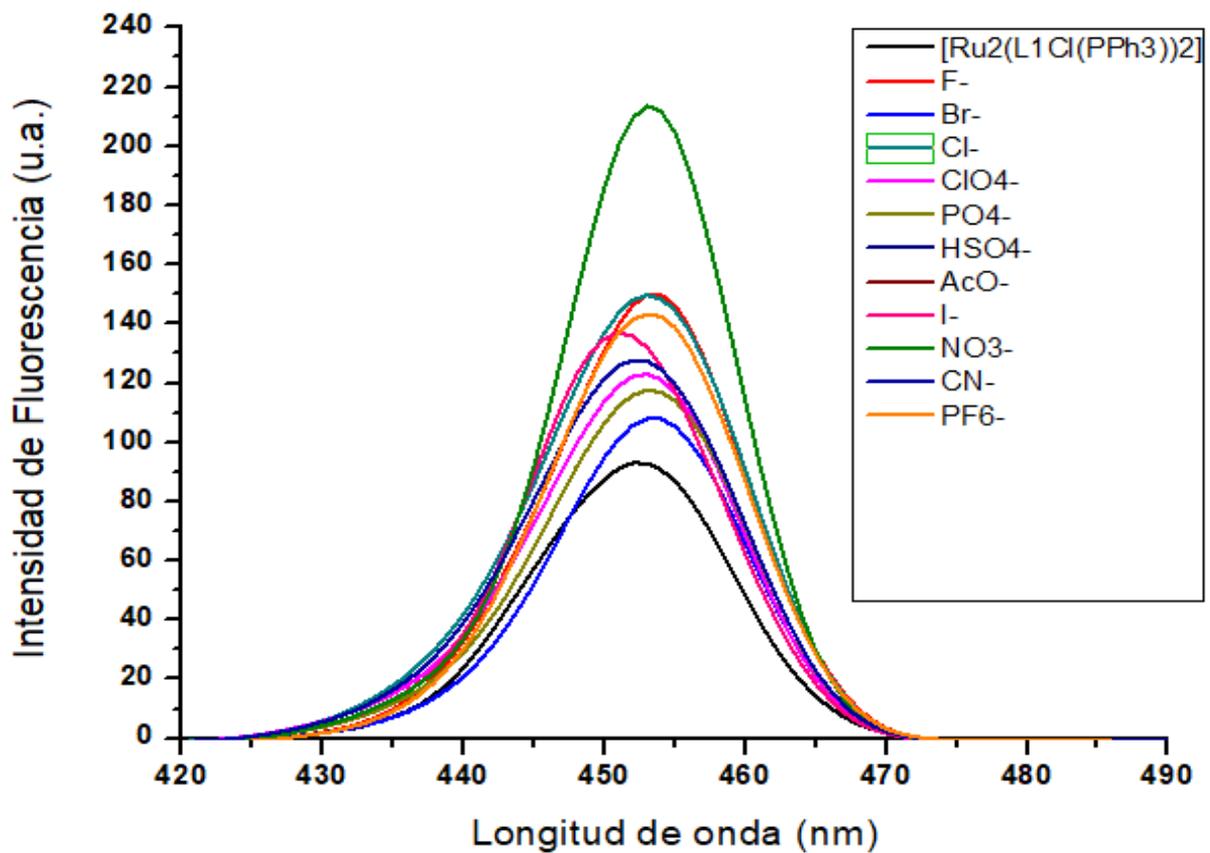


Figura 20. Evaluación de reconocimiento de aniones.

Se observa claramente que el ión detectado es el ion cloruro respecto a la serie de aniones con las que se trabajó, éste ión ocasiona un aumento en la fluorescencia, llamado encendido de la fluorescencia.

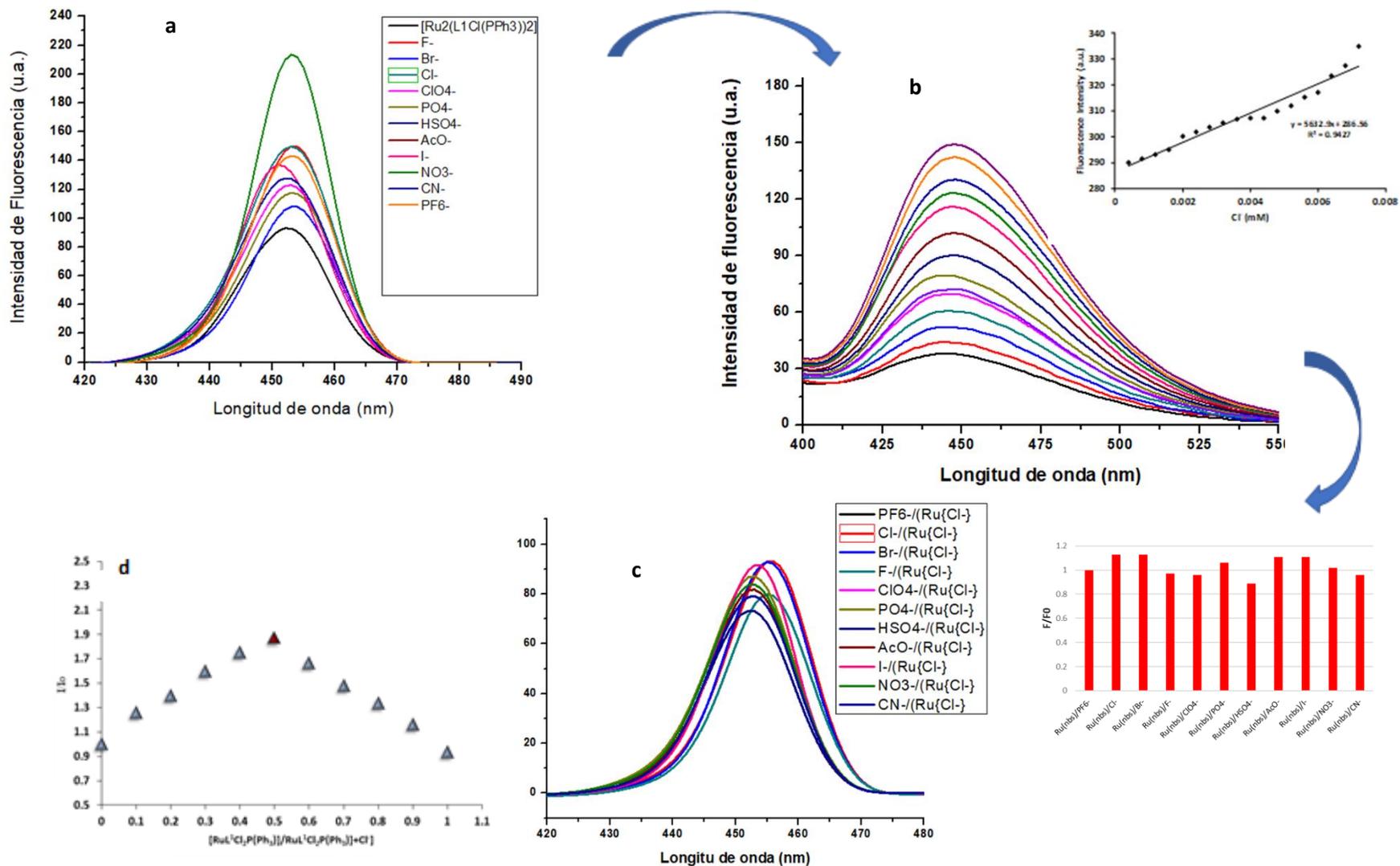


Figura 21. Reconocimiento de aniones en el sistema $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]\{\text{Cl}^-\}$

CAPÍTULO 8.

Evaluación inhibitoria de bacterias Gram (+) y Gram (-)

Se llevó a cabo la aplicación del complejo $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]$ en un cultivo de bacterias de dos cepas distintas, la técnica consistió en sembrar bacterias Gram(-) en este caso **Salmonella shigella** y Gram(+) **Lactobacillus Cereus**. Las cepas bacterianas utilizadas para estudios en cultivos celulares se obtuvieron de la Facultad de química, UNAM Banco de cepas (WFCC/WDCM-100) y se mantuvieron en Agar nutritivo.

Normalización de suspensión del inóculo:- Las suspensiones fueron preparadas con 24 horas de anticipación en Agar nutritivo de la siguiente manera: 0.46 g de agar nutritivo para 20 ml de agua destilada y la punta de aza para cada cepa. Se dejó incubando por 24 horas. Posterior a ello, en cada pozo se adicionan 100 μL de caldo, 20 μL de a) ligante, b) complejo, c) complejo/anión y 100 μL de bacteria. Para la consistencia y reproducibilidad de los parámetros, los experimentos se repitieron dos veces y se dejó en incubación por 24 horas a 38 °C.

Ensayos microbiológicos cualitativos:- Actividad antimicrobiana fue examinada por el método colorimétrico utilizando p-yodohidrotetrazolium, que al haber una coloración roja indica el crecimiento de bacterias.

Determinación de la concentración inhibitoria mínima (MIC):- El método modificado de micro-dilución fue empleado para determinar la concentración mínima inhibitoria y la adición de a) ligante, b) complejo, c) complejo/anion detectado contra las bacterias examinadas. Se diluyó la suspensión bacteriana estandarizada previamente preparada mediante el uso de caldo nutritivo (1×10^6 UFC/mL) y luego, fue vertida 100 μ L de 96 pozos en una microplaca que contiene 100 μ L de las diluciones de uno de los materiales probados. Se realizaron las diluciones seriadas de las soluciones de cada material de 0.1-10.0 mM. El crecimiento bacteriano sin adición de ligante, complejo y complejo/anión detectado se utilizó como control. Las placas fueron incubadas durante la noche, y luego 10.0 μ L de solución acuosa de 10,0 mM *p*-iodonitro-tetrazolio cloruro fue agregado a todos los pocillos para indicar el crecimiento bacteriano por el desarrollo de un color rojo por células biológicamente activas.

Se realizó el estudio de inhibición a diferentes concentraciones (0.1 mM, 0.3 mM, 0.5 mM, 0.7 mM, 0.9 mM, 2 mM, 4mM, 6 mM, 8 mM, 10 mM) tanto del ligante **L¹** como del complejo $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}_2(\text{PPh}_3))_2]$ obteniendo los siguientes resultados de inhibición:

1. El estudio se realizó por duplicado como parte del protocolo de sembrado.
2. El ligante **L¹** no es capaz de inhibir el crecimiento de **Lactobacillus cereus**. en ningún intervalo de concentración utilizado.

3. El complejo $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]$ es capaz de inhibir el crecimiento de **Salmonella shigella** a partir de una concentración de 0.3 mM, por lo que se amplió el rango de concentración entre 0.1 y 0.3 mM.

Se realizó un ampliación del intervalo de concentración del complejo $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]$ entre 0.1 y 0.3 mM para conocer la concentración mínima de inhibición para la **Salmonella shigella**, siendo 0.25 mM la concentración mínima donde aún hay crecimiento y a partir de 0.3 mM ya no hay inhibición.

Finalmente se hizo el estudio de inhibición de **Salmonella shigella** con el complejo $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]\{\text{Cl}^-\}$ obteniéndose que la adición del ion cloruro inhibe por debajo de la concentración mínima del complejo sólo; a concentración mínima donde no hay crecimiento es 0.1mM.

Tabla 5 . Resultados de inhibición.

	Samonella Shigella	Concentración mínima inhibitoria	Lactobacillus	Concentración mínima inhibitoria
L1	Sin inhibición	-----	Sin inhibición	-----
$[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]$	Inhibición	0.3 mM	Inhibición	0.3 mM
$[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]\{\text{Cl}^-\}$	Inhibición	0.1 mM	Inhibición	0.1mM

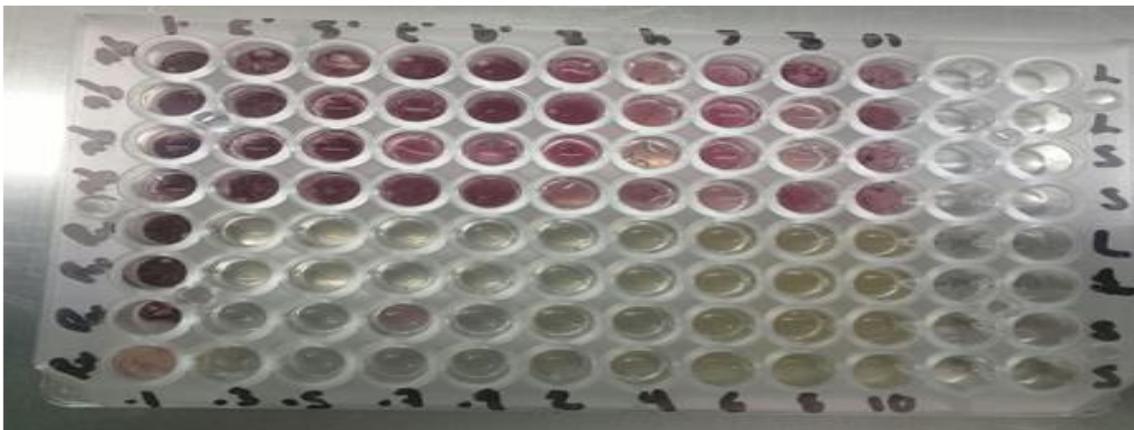


Figura 22. Inhibición de bacterias en un intervalo de concentración de 0.1mM a 10mM de L1, $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]$ y $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]\{\text{Cl}^-\}$.



Figura 23. Inhibición de bacterias en un intervalo de concentración de 0.0 mM a 0.3 mM de $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]$ y $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]\{\text{Cl}^-\}$.

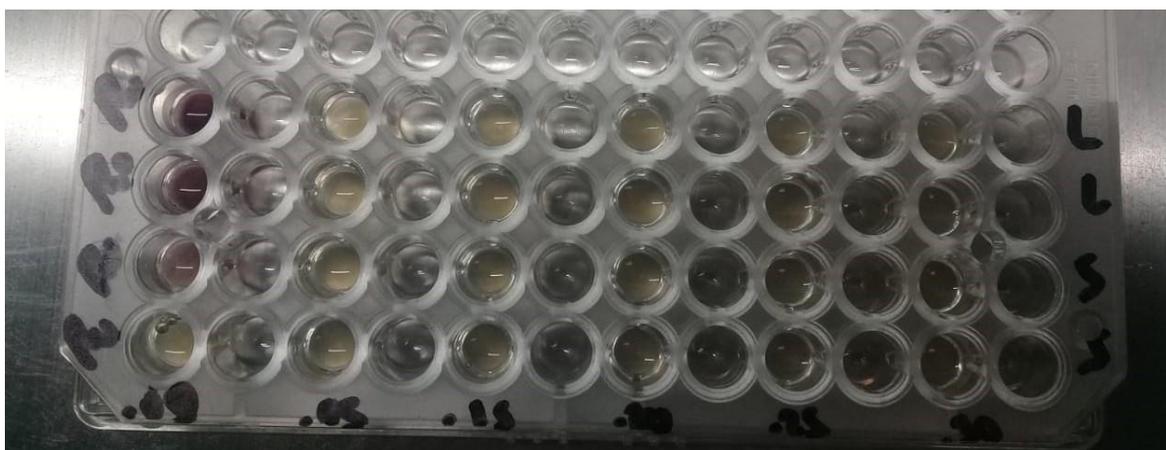


Figura 24. Inhibición de bacterias en un intervalo de concentración de 0.1mM a 0.3 mM de $[\text{Ru}_2(\text{L}^1\text{Cl}(\text{PPh}_3))_2]\{\text{Cl}^-\}$

Conclusiones

- a) Se sintetizó un precursor L1(sulfuro de bis(benzimidazol) para la síntesis de un complejo de rutenio(II) y utilizarlo como quimiosensor para detectar aniones en un sistema de metanol. Así como su caracterización por diferentes técnicas analíticas (^1H , ^{13}C , masas, IR, A.E.)
- b) El complejo sintetizado se empleó eficientemente para la detección del ión cloruro en el sistema metanol (huésped - anfitrión), midiendo su intensidad de fluorescencia en la prueba de reconocimiento de aniones.
- c) Se evaluó el comportamiento de fluorescencia del complejo con el ion cloruro, por titulación de este y se realizó el estudio de interferencia con otros aniones para ver la influencia con el sistema empleado, resultando que el complejo detecta solamente cloruro.
- d) Se evaluó la actividad antibacterial del complejo usando cepas Gram (+) y Gram (-), estudió que muestra la inhibición por el método colorimétrico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Van Rossom, W., Asby, D. J., Tavassoli, A. & Gale, P. A. Perenosins: A new class of anion transporter with anti-cancer activity. *Org. Biomol. Chem.* **14**, 2645–2650 (2016).
2. Share, A. I. *et al.* Chloride anion transporters inhibit growth of methicillin-resistant: *Staphylococcus aureus* (MRSA) in vitro. *Chem. Commun.* **52**, 7560–7563 (2016).
3. Amendola, V., Fabbrizzi, L., Mangano, C. & Pallavicini, P. Molecular machines based on metal ion translocation. *Acc. Chem. Res.* **34**, 488–493 (2001).
4. Fabbrizzi, L. & Poggi, A. Sensors and switches from supramolecular chemistry. *Chem. Soc. Rev.* **24**, 197–202 (1995).
5. Kotch, F. W. *et al.* Water-Mediated Association Provides an Ion Pair Receptor. *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 15140–15150 (2003).
6. Blondeau, P., Segura, M., Pérez-Fernández, R. & De Mendoza, J. Molecular recognition of oxoanions based on guanidinium receptors. *Chem. Soc. Rev.* **36**, 198–210 (2007).
7. Guadalupe Hernández, J., Huerta-Aguilar, C. A., Thangarasu, P. & Höpfl, H. A ruthenium(III) complex derived from: N, N'-bis(salicylidene)ethylenediamine as a chemosensor for the selective recognition of acetate and its interaction with cells for bio-imaging: Experimental and theoretical studies. *New J. Chem.* **41**, 10515–10527 (2017).

8. Sharma, H. *et al.* Pyridyl- and benzimidazole-based ruthenium(iii) complex for selective chloride recognition through fluorescence spectroscopy. *Anal. Methods* **5**, 3880–3887 (2013).
9. Lehn, J. M. Towards complex matter: Supramolecular chemistry and self-organization. *Eur. Rev.* **17**, 263–280 (2009).
10. Beerbohm, M. 'Mankind is divisible into two great classes: hosts and guests.' *Supramol. Chem.* 1–48 (1872).
11. Ihmels, H., Meiswinkel, A. & Mohrschladt, C. J. Novel Fluorescence Probes Based on Anthracene Derivatives. 2–4 (2000).
12. De Silva, A. P. *et al.* Signaling recognition events with fluorescent sensors and switches. *Chem. Rev.* **97**, 1515–1566 (1997).
13. Jameson, D. M. Introduction to fluorescence. *Introd. to Fluoresc.* 1–286 (2014). doi:10.1201/b16502
14. Wu, D. *et al.* Fluorescent chemosensors: The past, present and future. *Chem. Soc. Rev.* **46**, 7105–7123 (2017).
15. Wu, J. *et al.* A molecular peptide beacon for the ratiometric sensing of nucleic acids. *J. Am. Chem. Soc.* **134**, 1958–1961 (2012).
16. Martínez-Mañez, R., Sancenón, F., Hecht, M., Biyikal, M. & Rurack, K. Nanoscopic optical sensors based on functional supramolecular hybrid materials. *Anal. Bioanal. Chem.* **399**, 55–74 (2011).
17. Bissell, R. A. *et al.* Molecular fluorescent signalling with 'fluor-spacer-receptor'

systems: Approaches to sensing and switching devices via supramolecular photophysics. *Chem. Soc. Rev.* **21**, 187–195 (1992).

18. Letters, T. OF SENSOR ACTION BY VARIATION OF STRUCTURE
Substituent variation for (1) in methanola. 421–424 (1991).
19. Skoog, D. A., West, D. M., Holler, J. & Crouch, S. R. *Fundamento de Química Anlítica*. (2015).
20. Aluminio, A. *et al.* A Química Analítica. *Quim. Nova* **5**, 134–137 (1982).
21. O'Hara, P. B., Engelson, C. & Peter, W. S. Turning on the light: Lessons from luminescence. *J. Chem. Educ.* **82**, 49–52 (2005).
22. Dew, J. R. Turning on the light bulb. *Qual. Prog.* **48**, 30–34 (2015).
23. Wang, R. *et al.* Halide-templated assembly of polynuclear lanthanide-hydroxo complexes. *Inorg. Chem.* **41**, 278–286 (2002).
24. Kruppa, M. & König, B. Reversible coordinative bonds in molecular recognition. *Chem. Rev.* **106**, 3520–3560 (2006).
25. Chen, Y. *et al.* Coordination of two high-affinity hexamer peptides to copper(II) and palladium(II) models of the peptide - Metal chelation site on IMAC resins. *Inorg. Chem.* **39**, 1180–1186 (2000).
26. Sutherland, I. O. Molecular recognition by synthetic receptors. *Pure Appl. Chem.* **61**, 1547–1554 (1989).
27. Beer, P. D., Heseck, D., Hodacova, J. & Stokes, S. E. Acyclic redox responsive anion receptors containing amide linked cobalticinium moieties. *J. Chem. Soc.*

Chem. Commun. 270–272 (1992). doi:10.1039/C39920000270

28. Cornes, S. P., Davies, C. H., Blyghton, D., Sambrook, M. R. & Beer, P. D. Contrasting anion recognition behaviour exhibited by halogen and hydrogen bonding rotaxane hosts. *Org. Biomol. Chem.* **13**, 2582–2587 (2015).
29. Saedodin, S., Zamzamian, S. A. H., Nimvari, M. E., Wongwises, S. & Jouybari, H. J. Performance evaluation of a flat-plate solar collector filled with porous metal foam: Experimental and numerical analysis. *Energy Convers. Manag.* **153**, 278–287 (2017).
30. Lim, J. Y. C. & Beer, P. D. A Halogen Bonding 1,3-Disubstituted Ferrocene Receptor for Recognition and Redox Sensing of Azide. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2017**, 220–224 (2017).
31. Gunnlaugsson, T., Davis, A. P., O'Brien, J. E. & Glynn, M. Fluorescent sensing of pyrophosphate and bis-carboxylates with charge neutral PET chemosensors. *Org. Lett.* **4**, 2449–2452 (2002).
32. Wenzel, M., Hiscock, J. R. & Gale, P. A. Anion receptor chemistry: highlights from 2010. *Chem. Soc. Rev.* **41**, 480–520 (2012).
33. Lin, T. P., Chen, C. Y., Wen, Y. S. & Sun, S. S. Synthesis, photophysical, and anion-sensing properties of quinoxalinebis(sulfonamide) functionalized receptors and their metal complexes. *Inorg. Chem.* **46**, 9201–9212 (2007).
34. Huynh, M. H. V., Dattelbaum, D. M. & Meyer, T. J. Excited state electron and energy transfer in molecular assemblies. *Coord. Chem. Rev.* **249**, 457–483 (2005).

35. Alreja, P. & Kaur, N. Establishing the anion recognition correlation of the 2-(2-methoxyphenyl)-1H-imidazo [4, 5-f][1,10] phenanthroline and its Ru(bipy)₂²⁺ complex via fluorimetry. *J. Lumin.* **179**, 372–377 (2016).
36. Kundu, T. *et al.* Selective recognition of fluoride and acetate by a newly designed ruthenium framework: Experimental and theoretical investigations. *Dalt. Trans.* **41**, 4484–4496 (2012).
37. Maity, D., Vyas, G., Bhatt, M. & Paul, P. Detection of NaCN in aqueous media using a calixarene-based fluoroionophore containing ruthenium(ii)-bipyridine as the fluorogenic unit. *RSC Adv.* **5**, 6151–6159 (2015).
38. Chang, K. C., Sun, S. S., Odago, M. O. & Lees, A. J. Anion recognition and sensing by transition-metal complexes with polarized NH recognition motifs. *Coord. Chem. Rev.* **284**, 111–123 (2015).
39. Mo, H. J., Shen, Y. & Ye, B. H. Selective recognition of cyanide anion via formation of multipoint NH and phenyl CH hydrogen bonding with acyclic ruthenium bipyridine imidazole receptors in water. *Inorg. Chem.* **51**, 7174–7184 (2012).
40. Manzoni, C. *et al.* Pathogenic parkinson's disease mutations across the functional domains of LRRK2 alter the autophagic/lysosomal response to starvation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **441**, 862–866 (2013).
41. Agh-Atabay, N. M., Dulger, B. & Gucin, F. Synthesis and investigation of antimicrobial activity of some bisbenzimidazole-derived chelating agents. *Eur. J. Med. Chem.* **38**, 875–881 (2003).

42. Schendel, F. J., Cheng, Y. S., Otvos, J. D., Stubbe, J. & Otvos, J. D. Characterization and Chemical Properties of Phosphoribosylamine, an Unstable Intermediate in the de Novo Purine Biosynthetic Pathway. *Biochemistry* **27**, 2614–2623 (1988).
43. Castillo-Blum, S. E. & Barba-Behrens, N. Coordination chemistry of some biologically active ligands. *Coord. Chem. Rev.* **196**, 3–30 (2000).
44. Tavman, A. & Agh-atabay, N. M. Ó 2000. *Transit. Met. Chem.* **3**, 324–328 (2000).
45. Sundberg, R. J. Interactions of histidine and other imidazole derivatives with transition metal ions in chemical and biological systems. *Chem. Rev.* **74**, 471–517 (1974).
46. Pal, A. K. & Hanan, G. S. Stereoselective formation of a meso-diruthenium(ii,ii) complex and tuning the properties of its monoruthenium analogues. *Dalt. Trans.* **43**, 6567–6577 (2014).
47. Cotton, F. A., Haas, T. E., Cotton¹⁶, F. A. & Haas¹⁰, T. E. A Molecular Orbital Treatment of the Bonding in Certain Metal Atom Clusters¹³ The structures of the [M₆X₈]⁴⁺. *J. Phys. Chem, Solids* **3**, 318 (1957).
48. Huheey._Inorganic_chemistry_BookZZ.org.pdf.
49. Cotton, F. A., Wilkinson, G., Murillo, C. A., Bochmann, M., & Grimes, R. Advanced inorganic chemistry (Vol. 5). New York: Wiley (1988).
50. Quebatte, L., Solari, E., Scopelliti, R. & Severin, K. A bimetallic ruthenium

ethylene complex as a catalyst precursor for the Kharasch reaction. *Organometallics* **24**, 1404–1406 (2005).

51. Becker, E., Mereiter, K., Schmid, R. & Kirchner, K. Facile S-S bond activation of alkyl and aryl disulfides by [RuCp(Ch 3CN)₃]⁺: Formation of dinuclear Ru(III)-Ru(III) complexes with bridging thiolate ligands. *Organometallics* **23**, 2876–2883 (2004).
52. Tskhovrebov, A. G., Solari, E., Scopelliti, R. & Severin, K. Activation of nitrous oxide by dinuclear ruthenium complexes. *Organometallics* **31**, 7235–7240 (2012).
53. Gauthier, S., Scopelliti, R. & Severin, K. A heterobimetallic rhodium (I)-ruthenium (II) catalyst for the oppenauer-type oxidation of primary and secondary alcohols under mild conditions. *Organometallics* **23**, 3769–3771 (2004).
54. Dragutan, V., Dragutan, I. & Demonceau, A. Ruthenium complexes bearing N-Heterocyclic Carbene (NHC) ligands. *Platin. Met. Rev.* **49**, 183–188 (2005).
55. Gale, P. A., Howe, E. N. W., Wu, X. & Spooner, M. J. Anion receptor chemistry: Highlights from 2016. *Coord. Chem. Rev.* **375**, 333–372 (2018).
56. Bregestovski, P., Waseem, T. & Mukhtarov, M. Genetically encoded optical sensors for monitoring of intracellular chloride and chloride-selective channel activity. *Front. Mol. Neurosci.* **2**, 1–13 (2009).
57. Planells-Cases, R. & Jentsch, T. J. Chloride channelopathies. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Basis Dis.* **1792**, 173–189 (2009).

58. Singh, N. & Jang, D. O. Benzimidazole-based tripodal receptor: Highly selective fluorescent chemosensor for iodide in aqueous solution. *Org. Lett.* **9**, 1991–1994 (2007).
59. Mahapatra, A. K., Hazra, G., Roy, J. & Sahoo, P. A simple coumarin-based colorimetric and ratiometric chemosensor for acetate and a selective fluorescence turn-on probe for iodide. *J. Lumin.* **131**, 1255–1259 (2011).
60. Bai, Y. *et al.* Conformational switching fluorescent chemosensor for chloride anion. *New J. Chem.* **29**, 777–779 (2005).
61. Wallace, K. J., Belcher, W. J., Turner, D. R., Syed, K. F. & Steed, J. W. Slow anion exchange, conformational equilibria, and fluorescent sensing in venus flytrap aminopyridinium-based anion hosts. *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 9699–9715 (2003).